Vol. 6 October 1957 No. 5

JAPANESE JOURNAL OF PARASITOLOGY

編集委員
小宮義孝・松林久吉・宮崎一郎
森下薫・佐々学・山下次郎

寄生虫学雑誌

浅見敬三所蔵

第6巻 昭和32年10月 第5号

目次

原著

横殿順・迫井忠: 合成サントニンの人体内蛔虫の生態に及ぼす影響並びに駆虫効果に就て……1
若杉幹太郎: ミクロフィラリアの集虫診断法の研究
2. 諸種薬物を用いた溶血集虫法について……5
安羅岡一男: 鉤仔・成虫の行動におよぼす各種駆虫剤の影響に関する研究……9
中山クニ子: 豚蛔虫卵蛋白膜に対する豚胆汁及び細菌の影響について……22
門多魁: 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究
(2) X線の蛔虫卵発育に及ぼす影響について……25
門多魁: 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究
(3) Cobalt-60 の蛔虫卵発育に及ぼす影響について(その1)……32
鈴木啓之: *Entamoeba gingivalis* の生存に対する随伴細菌死菌体の影響……40
高田季久: 二, 三の新抗生物質の培養赤痢アメーバに対する作用……49
新井博: *Toxoplasma gondii* の毒力に及ぼす各種動物血清の影響……54
横川宗雄・吉村裕之・大島智夫・木畑美知江: 肺吸虫症の皮内反応に関する研究 (III)
人体における Prausnitz-Küstner 反応の実験……57
斎藤敏昭: 蛔虫子宮内卵の発育及びその抵抗性に関する研究
第3報 豚蛔虫子宮内各部位卵の薬剤に対する抵抗性の比較……66
伊藤二郎・何倚英: 日本住血吸虫卵検査法の比較……73
好井敏昭・三浦梧楼・河野明: ヅビニ鉤虫多数寄生患者の一例 オーミンによる治験例……77
村重武次: 蟯虫検査成績 特に婦人に於ける感染状況……84
○安田一郎: 各種化学薬品の鉤虫仔虫に対する殺滅試験
(2) 駆虫剤および殺虫剤等による *in vitro* 試験……87
小林昭夫・熊田三由: 数種市販合成洗剤による蔬菜附着蛔虫卵の洗滌除去効果……99
寄贈文献目録 (9)……65, 76, 98
会記……83

日本寄生虫学会

The Japanese Society of Parasitology

National Institute of Health, Shinagawaku, Kamiosaki, Tokyo, Japan

虫下しは

虫体には直接强力に作用して、人体には何等害を及ぼさない……高い駆虫率と共にのみ易く安全なマクニンS

海人草の駆虫有効成分の解明は永く駆虫業界の課題でしたが、弊社ではその主有効成分カイニン酸の分離と共に構造式の決定に成功し、更に化学的に正確な定量法も完成しました。新製品マクニンSは海人草有効成分のより高度な純粋分離によるもので、又今回はじめて化学的に行われた正確な力価の検定をへたものです

新製品マクニンSの大人一回の服用量は従来の五錠から三錠となり、剤形も小粒ののみ易いものとなつて、包装も斬新なストリップパッケイジです。一般用の他に団体用もありますが、これは一回量二錠、のみ易く配布しやすい便利な包装で、集団駆虫に最適です。

〔包装〕 三錠・大錠・団体用二〇〇錠（一〇〇人分）

マクニンとサントニンの合剤

マクニンS（エス）

藤沢薬品
大阪市東区道修町

十二指腸虫には日本人口の約30%

2500万人が犯されている

【特　徴】

1. 優れた高度の除鞠率(85%以上)を示す。
2. 副作用殆どなく下剤の併用食餌制限の必要なし。
3. 患者による禁忌なく反覆投與可能。
4. 集團驅除に好適。

包装			
糖衣錠	40錠	120錠	1000錠
顆　粒	50瓦	200瓦	500瓦
純　末	25瓦	100瓦	500瓦

他に何れも集團用あり

オーミン薬價基準(單位當)

	甲地區	乙地區
純　末	23.95	24.65
顆　粒	15.35	15.75
錠　剤	2.65	2.70

新鉤虫驅除剤…1―プロモーナフトール―(2)

オーミン

(文献試供品贈呈)

つくし印　富山化學

富山化學工業株式會社
本　社　富山市下奥井8
東京支店　東京都中央區日本橋本町3～9（センイ會館内）
大阪支店　大阪市北區老松町2～16

虫下じは

虫体には直接強力に作用して、人体には何等害を及ぼさない………
高い駆虫率と共にのみ易く安全なマクニンS

海人草の駆虫有効成分の解明は永く駆虫業界の課題でしたが、弊社ではその主有効成分カイニン酸の分離と共に構造式の決定に成功し、更に化学的に正確な定量法も完成しました。新製品マクニンSは海人草有効成分のより高度な純粋分離によるもので、又今回はじめて化学的に行われた正確な力価の検定をへたものです

新製品マクニンSの大人一回の服用量は従来の五錠から三錠となり、剤形も小粒ののみ易いものとなつて、包装も斬新なストリップパッケイジです。一般用の他に団体用もありますが、これは一回量二錠、のみ易く配布しやすい便利な包装で、集団駆虫に最適です。

〔包装〕 三錠・六錠・団体用二〇〇錠（一〇〇人分）

マクニンとサントニンの合剤

マクニンS（エス）

藤沢薬品
大阪市東区道修町

十二指腸虫には日本人口の約30%

2500万人が犯されている

【特　徴】

1. 優れた高度の除輸率(85%以上)を示す。
2. 副作用殆どなく下剤の併用食餌制限の必要なし。
3. 患者による禁忌なく反覆投與可能。
4. 集團驅除に好適。

オーミン薬價基準（單位當）

	甲地區	乙地區
純　末	23.95	24.65
顆　粒	15.35	15.75
錠　剤	2.65	2.70

包裝 糖衣錠	40錠	120錠	1000錠
顆　粒	50瓦	200瓦	500瓦
純　末	25瓦	100瓦	500瓦

他に何れも集團用あり

新鉤虫驅除剤…1―ブロモーナフトール―(2)

オーミン

（文献試供品贈呈）

つくし印
富山化學

富山化學工業株式會社
本　社　富　山　市　下　奥　井　8
東京支店　東京都中央區日本橋本町3～9
（センイ會館内）
大阪支店　大阪市北區老松町2～16

合成サントニンの人体内蛔虫の生態に及ぼす影響並に駆虫効果に就て

槇　殿　　順　　迫　井　　忠
広島市臨床医学放射線学研究所
(昭和 31 年 8 月 31 日受領)

緒　言

蛔虫駆除剤として王座を占めるサントニンは Kahler (1892), Alms (1830) によつて『シナ花』中に発見され, Oberdörfer がサントニンと命名, 1833 年製薬会社『メルク』により工業的製造がはじめられ, 1838 年 Robert von Mayer が臨床実験を行つて以来蛔虫に対する特効薬として知られるに至つたのである。

吾が国に於ては 1937 年市野瀬潜氏(日本新薬株式会社)が苦心の結果薬草の栽培繁殖に成功し, 今日に至つては遂に国内需要を充たすのみならず, 輸出の域に達しているという。本業績が終戦後に於ける吾が国の蛔虫駆除に当つて為した偉大なる貢献は保健文化賞を以て酬いられるのも亦当然のことと思う。

この時に当り武田薬品工業株式会社研究者は又サントニンの合成の偉業を完成した。本業績はカイニン酸の発見と共に最近に於ける吾が国科学陣の世界に誇る二大業績であることは周知の通りである。

吾々は先ずこの合成過程の種々の製品を吾々の人体内蛔虫の動態観察によつて検討する事は今後の研究に於て或いは予期せざる発展を期待し得るのではあるまいかという事を想像し, 1955 年 3 月同社研究部の好意によつて l-α-サントニン並に d-α-サントニンの供与を得て観察を試み, 玆に一定の成績を得たので之を報告する次第である。

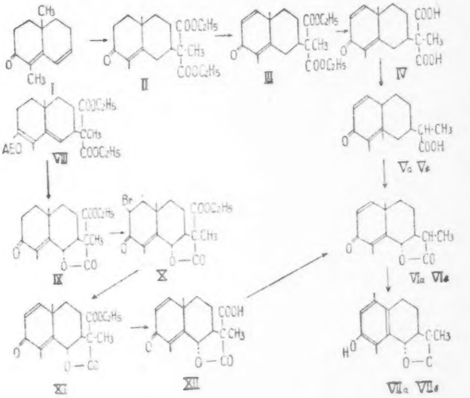
観察方法

(a) 薬物に就いて, 本研究に供した合成品は武田薬品工業株式会社学術部遠藤課長の好意により恵与された。

d-α-サントニンの遮光並に保存には充分なる注意を払い, l-α-サントニンは普通天然製品同様に取扱つた。

本剤の投与は経口的に 100 mg を投与。その合成過程並に化学構造式は第 1 表の通りである。

第 1 表　サントニンの全合成 (阿部泰夫, 春川忠二, 石川尚, 三木卓一, 角正夫, 栂正) Proc. Japan Academy, 30. 116, 119, (1954) の要約



(b) 観察術式　既に吾々が報告した如く, X 線による人体内蛔虫の生態観察を行い, 本剤投与後の時間的経過に従つて投与後の動態観察をなす。投与薬品によつて次の如く分つた。

第 1 観察　l-α-サントニン適用後の蛔虫の動態について

第 2 観察　d-α-サントニン適用後の蛔虫の動態について

観察成績

予め蛔虫の寄生を確認した 10 症例 29 虫体を 2 群に分けて観察を行う。

1. 第 1 観察　l-α-サントニン適用後の蛔虫の動態に

JUN MAKIDONO & TADASHI SEKOI: On the effect of the synthetized santonin for the physiology of *Ascaris lumbricoides* in human body and its anthelminthic effect. (Hiroshima physicotherapeutic College, Hiroshima)

第2表　l-α-Santonin 適用後の動態 (100 mg)

時間	型 ＼ 症例	A		B		C		D		E		比率 %
	総数	3		4		2		4		4		
		虫数	%	虫数	%	虫数	%	虫数	%	虫数	%	
投与前	第一静止型	3	100	4	100	2	100	4	100	4	100	100.0
	運動型											
	第二静止型											
三十分	第一静止型	2	66.6	2	50	2	100	1	25	2	50	52.94
	運動型	1	33.3	2	50			3	75	2	50	47.06
	第二静止型											
一時間	第一静止型									2	50	11.8
	運動型	3	100	3	75	1	50	2	50	1	25	58.8
	第二静止型			1	25	1	50	2	50	1	25	29.4
二時間	第一静止型							1	25	2	50	17.6
	運動型	1	33.3									5.9
	第二静止型	2	66.6	4	100	2	100	3	75	2	50	76.5

第3表　d-α-Santonin 適用後の動態 (100 mg)

時間	型 ＼ 症例	A		B		C		D		E		比率 %
	総数	1		3		2		2		4		
		虫数	%	虫数	%	虫数	%	虫数	%	虫数	%	
投与前	第一静止型	1	100	2	66.6	2	100	2	100	4	100	91.66
	運動型			1	83.3							8,34
	第二静止型											
三十分	第一静止型	1	100	2	66.6	2	100	2	100	4	100	91.66
	運動型			1	33.3							8.34
	第二静止型											
一時間	第一静止型	1	100	3	100	2	100	2	100	3	75	91.66
	運動型									1	25	8.34
	第二静止型											
二時間	第一静止型	1	100	3	100	1	50	2	100	4	100	91.66
	運動型											
	第二静止型					1	50					8.34

ついて，型の如く予め正常寄生姿態を検した5症例17虫体についてl-α-サントニン投与後30分，1時間，2時間の経過を追及して第2表の成績を得た。表より明らかな通り投与前第1静止型を示すもの17虫体で100％あつたものが，投与後30分で第1静止型52.94％に減少し，逆に異常運動型が47.06％現われる。1時間目に至つては第1静止型は更に11.8％に減少し異常運動を呈するもの58.8％に増加する。而して1時間目には29.4％の第2静止型をとつて下降転移をはじめる。2時間目に於ては第1静止型は1時間と大差はないが，運動型は殆んど第2静止型に移行したため第2静止型は76.5％の高率で駆虫態勢を示す。

以上の個々の姿を詳細に観察すれば薬効の発現と共に第1静止型或いは正常運動型の正常姿態より異常運動型を経て第2静止型をとる。

2. 第2観察 d-α-サントニン適用後の蛔虫の動態について

予め正常寄生姿態を定めた5症例12虫体に d-α-サントニン 100 mg を投与し，投与後30分，1時間，2時間と時間的経過を追つて動態観察を行い第3表の成績を得た。

表より明らかなる如く，投与前第1静止型 91.66 %，正常運動型 8.34 % であつたものが30分に於ては全く同様な姿態のまま推移する。1時間に於ては第1静止型 91.66 %，運動型 8.34 % であつて全く同じ数値を示し，2時間に至つては第1静止型 91.66 % を示して大勢には全く異常がないが，第2静止型 8.34 % 出現する。

以上の経過を個々の虫体に就いて見ればB症例の運動型は1時間目には第1静止型に帰り，それに代つてE症例の1虫体が正常運動型を呈する。従つて30分並に1時間後に於ける数値には変動を見ない。2時間目に於けるC症例の第2静止型は全く異常運動を経ずに出現せるも正常にても稀に見る巨大虫体の第2静止型と解される姿態であつて薬効を云々するには足らないものと解する。

叙上の成績より d-α-サントニンは全く薬効なき値である。併し乍ら或いは薬用量の不足によつて反応の明らかでない点があるのではないかを憂い更に3症例9虫体に d-α-サントニン1瓦を投与して検し第4表に観る成績を得た。

第4表 d-α-Santonin 適用後の動態 (1 gr)

時間	型 ＼ 症例	A		B		C		比率%
	総数	3		4		2		
	%	虫数	%	虫数	%	虫数	%	
投与前	第一静止型	3	100	3	75	2	100	88.8
	運動型			1	25			11.2
	第二静止型							
三十分	第一静止型	3	100	3	75	2	100	88.1
	運動型			1	25			11.2
	第二静止型							
一時間	第一静止型	3	100	4	100	1	50	88.8
	運動型					1	50	11.2
	第二静止型							
二時間	第一静止型	2	66.6	4	100	2	100	88.8
	運動型	1	33.3					11.2
	第二静止型							

以上の成績を見るに投与前第1静止型 88.8 %，運動型 11.2 % であるが，30分では全く変化のない姿態で推移し，1時間に於てはB症例の正常運動型が第1静止型復帰に代つてC症例に運動型が現われ，2時間にあつてはC症例の第1静止型復帰に代つてA症例に運動型が現われるため1時間並に2時間共に比率に於ては全く変動がない。

以上個々の虫体について追及すれば正常運動型はこの全体の比率では正常出現率と大差なく，又全虫体を通じて異常運動型と観るべき姿態の出現はない。

総括並に考按

吾々はレ線による人体内蛔虫の生態に及ぼす合成サントニン，即ち l-α-サントニン並に d-α-サントニンの影響を観察するため投与後の時間的経過に従つてその動態観察を試み叙上の観察成績を得た。以上の成績から

(1) l-α-サントニンは投与後時間的経過に従つて異常運動型を経て第2静止型をとり下降転移する。その姿態は吾々が曩に天然サントニンについて報告したものと全く同一にて同様な消長を示し，薬用量 100 mg に於ては量的関係に於ても亦相違点を見出し難い。

(2) d-α-サントニンは 100 mg 投与では全く蛔虫に対して影響がない。従つて更に1瓦投与に於て同様観察を行つても亦全く駆虫効果を認め難いと云う結果を得たのである。

飜つて考えるに，この両薬物は化学構造上唯単に左旋性か右旋性かの謂わば極めて些細なる相違点に拘らず蛔虫に及ぼす駆虫効果は l-α-サントニンが断然有効に作用するに反し，d-α-サントニンは全く無効と云うが如き極端なる事実を指摘する事が出来る。余はこの相違点の検討こそ幾多の興味ある謎を擁するサントニンの作用機序を解明する端緒ともなるのではないかと思われてならないのである。

結 論

吾々は武田薬品工業株式会社が合成した合成サントニン『l-d-サントニン』は全く天然サントニンと同一である事を実証し，サントニン d-α-は異なることを結論するものである。

稿を終るに臨み本研究に対して御支援を賜つた武田薬品工業株式会社学術部，遠藤課長，宮崎広島出張所長に感謝の意を表する。

参考文献

1) 槇殿順(1955)： 蛔虫駆除の理論と実際，医学書院．—2) 槇殿順外(1955)： 蛔虫のレントゲン診断に就て，広島医学，9(10)．—3) 森下薫(1953)： 蛔虫及び蛔虫症，永井書店．

Summary

We applied l-α-Santonin and d-α-santonin, both synthetized by Takeda Yakuhin Kogyo Co. to *Ascaris lumbricoides* haboring in human body and observed their behavior by X rays and as a result of it got the following conclusions.

1) l-α-santonin is quite equal to that of natural one.

2) d-α- santonin has no anthelminthic effect on Ascaris.

ミクロフィラリアの集虫診断法の研究

2. 諸種薬物を用いた溶血集虫法について

若杉幹太郎
東京大学伝染病研究所寄生虫研究部（主任 佐々学助教授）

（昭和31年12月25日受領）

緒　言

人畜糸状虫症に於けるミクロフィラリア（以下 mf と略称）の集虫法として，さきに薬物を用いないで，特に凍結操作による溶血集虫法について検討を加えた。そこでさらに，水をはじめとして，メタノール，ホルマリン，サポニン及び逆性石鹸などの溶血剤を用いた集虫法の得失に検討を加えた。

諸種溶血剤の集虫法に於ける得失

水，メタノール，10％ホルマリン，サポニン，逆性石鹸などについて，先ず溶血性の検討及び mf の運動性に及ぼす影響をしらべた。使用した血液は糸状虫感染犬から，3.8％クエン酸ソーダで凝血を阻止した全血液，あるいは血球浮游液で，浮游液は全血液に8倍量の 0.9％食塩水を加えて，毎分1000回転，10分間遠心沈澱し，上清を除去したものである。

1. 水

a. 溶血性の検討

上記血球浮游液 0.5 cc に対し，0.5 cc，4.5 cc，9.5 cc，19.5 cc の水を加えて攪拌し，それぞれ2倍，10倍，20倍，40倍稀釈を行い溶血度を観察した。

判定：室温（22°C）で約10分～20分後の観察では，2倍稀釈で血球間に mf の1部分を認めうる程度（＋），10倍稀釈では mf に附着する血球殆どなく（卅），20～40倍稀釈では，殆ど完全した溶血した（卌）。以上の成績から，血球浮游液を水で溶血するには，少くとも10倍稀釈が必要であり，少量血液からの溶血集虫には適するが，大量血液からの集虫には不適であり，集虫率の低下を免れないと推定された。

b. mf の運動性

上記2倍稀釈液では，室温2時間後，運動性100％（以下何れも50隻中の運動 mf 数を百分率に直したもの）で3時間後98％，24時間後0％となつた。故に充分溶血させるために，大量の水を使用すると mf の運動性は急激に減少し，場合によつては実験材料としての価値は少くなる。2～10倍稀釈では凍結法の24時間後生存65.6％に比し，早期死滅（24時間後0％）を免れないが，少量血液からの集虫には，10倍稀釈が簡単でしかも実用性あるものと推定された。

2. メタノール

a. 溶血性の検討

20％メタノール水及び2％メタノール水の両者を血球浮游液 0.5 cc に対し，それぞれ 0.5 cc，4.5 cc，9.5 cc，19.5 cc づつ加えて浮游液の2倍，10倍，20倍，40倍稀釈について夫々10～20分後の溶血性を比較したところ，20％と2％の間ではあまり顕著な差はなかつた。また2倍稀釈ではいづれも溶血が不充分で水を用いた場合と大差なく，20倍，40倍では完全溶血して水の場合と同様であり，ただ10倍稀釈のところではメタノールの方が水よりやゝ溶血度が高かつた。

b. mf の運動性

20％メタノール水で2倍に血液稀釈すると22°C，10～20分後の観察では mf 30隻中10隻の約33％が運動していたが10倍，20倍，40倍にすると何れも，50隻中運動するものを認めなかつた。これに比し2％メタノールでは，2倍稀釈で mf 50隻中50隻，10倍稀釈では42隻，20倍で2隻と急激に運動性低下し，40倍では0隻であつたが，20％メタノールよりは運動性がよく保たれた。

以上からメタノール水の溶血性は水に比し優つているが毒性の点からも，溶血性の面からも20％メタノール水10倍稀釈以下が実用性あるものと思われた。

3. ホルマリン

MIKITARO WAKASUGI: Studies on the concentrating method for diagnosis of microfilariae. 2. (Department of Parasitology, Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo.)

James Knott (1939) 等のホルマリン溶血が報告されているが，メタノールと同様の溶血操作では，10％ホルマリンの場合，10倍稀釈で灰色泥状の沈澱物を多量に生じ，更に mf は完全に死滅するため，検出上困難をきはめ実用性に乏しいものと考えた。

4. サポニン

サポニンは小宗化学製のものを使用したが，これを蒸溜水で倍稀釈法で20％から0.002％までの5段階に稀釈し，夫々の溶血作用を血球浮游液及び全血液について比較した。なお溶血度の判定基準としてメタノール同様，mf と血球との関係から次ぎの6度に分類した。肉眼的には溶血を認めるも約5 mm^3 をスライドグラスにとると顕微鏡的には mf を直接は認め得ぬものを(−)，mf の1部分を認めうるものを(+)，mf の $^2/_3$ 以上を認めうる程度(++)，mf に数箇の血球が附着する程度(+++)，mf に附着する血球のないもの(++++)，血球全くなきもの(+++++)とした。

a. 溶血性の検討

全血液に対する溶血作用

第1表に示すごとく10％サポニンでは20°C 30分から24時間にわたつての観察で，とくに時間的影響少く，溶血度は+++++であつた。1％でも同様の成績を示したが，0.1％では急激に溶血度が減じ，mf の $^1/_3$ は血球に邪魔され(++)観察に不便であつた。また30分後から16時間後でも溶血度は変化なく，24時間で幾分進行した(+++)，0.01％，0.001％ではともに mf の1部分を辛うじて認めうる程度で(+)時間的にも変化を認めなかつた（第1表)。

血球浮游液に対する溶血作用

10％サポニンでは溶血性きはめて良好で，時間的影響を認めず，1％でも殆ど同様の成績であつた。0.1％では全血液に於ける場合と比較して溶血性よく(+++)，時間とともに溶血も進行し24時間後には(++++)，0.01％，0.001％でも(++)で，24時間後には前者(++++)，後者(+++)でなかつた(第2表)。

以上からサポニン溶血は全血液に対するよりは血球浮游液に対して有効と思われ両者ともに実用できるのは1％以上と判定した。

b. mf の運動性

サポニンは全血液乃至血球浮游液との混和30分後の観察では，全稀釈段階ですべての mf に運動性が認められたが，24時間後10％，1％では50隻中運動するもの全くなく，0.1％では全血液で50隻中50隻運動を示すのに比し浮游液では13隻(26％)，0.01％では前者50隻(100％)に比し33隻(66％)と運動性が低下するのを認めた。

第1表 全血液に対するサポニンの溶血性と mf の運動性に及ぼす影響

時間 ＼ 濃度(％)	10	1	0.1	0.01	0.001
30 分	++++(50)	++++(50)	++(50)	+(50)	+(50)
4 時 間	++++(49)	+++++(47)	++(50)	+(50)	+(50)
16 時 間	+++++(0)	+++++(15)	++(50)	+(50)	+(50)
24 時 間	+++++(0)	++++(0)	+++(50)	+(50)	+(50)

註 + 肉眼的にのみ溶血を認める
++ mf の1部分を認めうる
+++ mf に数箇の附着血球がある
++++ 附着血球がない
+++++ 血球を視野に認めない
( )内の数字は50隻中の運動 mf 数

第2表 血球浮游液に対するサポニンの溶血性と，mf の運動性に及ぼす影響

時間 ＼ 濃度(％)	10	1	0.1	0.01	0.001
30 分	+++(50)	+++++(50)	+++(50)	++(50)	++(50)
4 時 間	+++++(50)	++++(36)	+++(30)	+++(50)	+++(50)
16 時 間	+++++(0)	+++++(0)	+++(46)	+++(42)	+++(50)
24 時 間	+++++(0)	++++(0)	++++(13)	++++(33)	+++(50)

以上溶血性から実用的と考えられるのは，20°C で10％〜1％サポニンであり，運動性から30分〜4時間以内での観察が必要と推定された。なお和光純薬製サポニンでの実験も殆ど同様の成績であつた。

5. 逆性石鹼

逆性石鹼は三共製ラザール粉末，武田製オスバン液，田辺製ミヨシの3者を使用し，サポニンと平行して実験を行つた。

a. 溶血性の検討

逆性石鹼の溶血性は3者共差異なく，何れも原体の1％稀釈の段階では飴状黒茶褐色の沈渣を生じ，0.1％では薄赤色の混濁を生じそれ以下の稀釈では透明赤色で顕微鏡的に，血球をかなり認め++，肉眼的には各稀釈段階に於ける溶血度の差異を推定出来た。サポニンでは同じ血球浮游液の溶血では何れもブドウ色透明となり，特に肉眼的には稀釈段階の差による色調の変化を示さず溶血性

第3表　異つた濃度における逆性石鹸及びサポニンの溶血性と mf 運動性に及ぼす影響

時間＼濃度	逆性石鹸 2%	逆性石鹸 2×10^{-1}	逆性石鹸 2×10^{-2}	逆性石鹸 2×10^{-3}	逆性石鹸 対照	サポニン 2%	サポニン 2×10^{-1}	サポニン 2×10^{-2}	サポニン 2×10^{-3}	サポニン 対照
30 分	++++ 0	+++ 0	++ 50	++ 50	− 50	+++ 50	++++ 50	+++ 50	+++ 50	− 50
24 時間	++++ 0	++++ 0	++ 0	+++ 0	− 50	++++ 0	++++ 0	+++ 0	+++ 0	− 50

数字は 50 隻中の運動 mf 数

の差異を認めなかつたのが異る点である(第3表)。

b. mf の運動性

水，サポニンに比し，完全溶血の際のの死滅が早い。すなわち第3表の如く，2%，0.2%共に30分後には運動性なく，溶血性をたかめると短時間内での観察が必要となる。

6. 各溶血法におけるミクロフィラリア染色性の差異

水とメタノール法は殆ど同様の染色所見であつたが，ホルマリン法は沈澱物があつて，塗抹の際，染色液がこれに吸収されるためか染色性不良となり，また視野のコントラストも不良であつた。サポニン，逆性石鹸ではギムザ染色(水1cc にギムザ原液1滴半の割合 pH 6.4, 40分) をほどこすと全体として淡紫色に染まり，NR, EP, AP は認めうるが GZ は辛うじて推定出来る程度であつた。同一条件で行つたメタノール溶血に対しての染色では稍々赤味を帯びた濃紫色で，NR, EP, EZ, AP もかなり明瞭に認め得，GZ も核を明瞭に判別出来，ギムザ染色ではメタノールの方が優れている様に思われた。サポニン，逆性石鹸溶血では mf が生きているため，凍結溶血法と生体染色の比較を試みた。Azur II Neutral Rot で染色 (染色液 20 mm^3＋溶血液 20 mm^3) すると凍結法では10分後 NR, EP, AP をみとめ30分後には紫色の GZ が明瞭であるに比し，サポニンでは10分でなお染色性を示さず，30分後に虫体が稍々黄色を帯びた紫色にそまり，また被鞘が灰黄色を呈する程度の染色性で，凍結法に比し劣つている様に思われた。

総　括

1. 凍結，水，メタノール，ホルマリン，サポニン及び逆性石鹸の6種の溶血法を採用し，これ等の溶血度と，検出上重要な mf 生存状態を検討した。

2. これらの薬剤の溶血性はそれぞれ一定の条件においてすべて良好であつた。しかし，いづれもミクロフィラリアに多少とも毒性があり，溶血充分な濃度を用いるとその運動性が失われることを知つた。

3. 染色性は，水，メタノール，凍結法，いづれも良好の成績であつたが，ホルマリン法では甚だ不良であり，サポニン，逆性石鹸法においてはやゝ良好と認められた。生体染色には凍結法がもつとも適していた。

4. 以上の各集虫法を比較した結果，溶血性，虫体の生存率，染色性のすべてにおいて，凍結集虫法が最もすぐれていると判定された。しかし野外に於ける集団検診などの目的には操作が簡易な点で，水溶血法，メタノール法，サポニン法なども一定の考慮の下に行えばそれぞれ実用性のあることを知つた。

終りに本研究について終始御指導，御鞭撻を賜わつた佐々学助教授，また御援助を惜しまれなかつた林滋生博士はじめ寄生虫研究部の皆様に深甚の謝意を表する。

文　献

1) 石井進(1941)：馬の microfilaria の一検出法 応用獣医学雑誌，14(14)，265, 中央72による．—2) 大浜信賢(1941)：Filaria 仔虫の昼間検出，台湾医会誌，40(1)，147，40(5)，941，中央76による．—3) 久米清治 (1950)：ミクロフィラリアの検出法，日本獣医協会雑誌，3, 291．—4) 佐々学(1944)：マラリア原虫集虫法に関する研究，海軍軍医会雑誌，第一報，33(1)，90〜92，第二報，33(9)，984-986．—5) 厚生省衛生検査指針(I)：細菌血清学的検査指針，(V-2)，寄生虫検査指針(改訂)，1955, 6-9．—6) 菅沼清次郎 (1921)：人体ばんくろふとふいらありの仔虫産生に関する臨床的観察，日内科誌，9 (2)，中央19による．—7) 永吉浩(1948)：バンクロフト糸状虫症に対する諸種薬物の影響，虫体外仔虫に対する薬物の影響，鹿児島医専学術報告，第4号．—8) 松下良吉 (1929)：人糸状虫の検出法について，大阪医会誌，28(5)，1610．—9) 溝上定男 (1913)：ふいらりあ仔虫の検出法について，陸軍軍医団誌，(4)，4．—10) James Knott (1939)：A method for making Microfilarial Surveys on Day

Blood, Royal Society of Tropical. Med. Hyg., 33 (2).

Summary

Various methods of haemolysis in the microfilariae concentration technics were compared from the standpoints of the efficacy and of influence on microfilariae. As was reported in the previous paper, even a very small number of microfilariae contents in the blood could be diagnosed by centrifuging it after the red blood cells were haemolysed. It wes proved that freezing and thawing, addition of water, 20 % methanol, 10 % formalin, saponin and invert soap (kathion soap) were all effective as the haemolysing agents under certain conditions. However, most of the procedures except for freezing and thawing were toxic to microfilariae, and their motility was more or less hindered, thus giving disadvantage to their detection under a microscope. Formalin was found to produce a large amount of undesirable sediment and to give poor staining. Among the chemicals here used, saponin was proved to be least toxic to the microfilariae, and of the choice substance. Freezing and thawing method presented in the previous paper of the author was found to be the best in its haemolysing efficacy, non-toxicity to the motility of microfilariae and in their characters under vital or giemsa stainings.

鉤仔・成虫の行動におよぼす各種駆虫剤の影響に関する研究

安 羅 岡 一 男

国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和 31 年 12 月 25 日受領)

まえがき

従来鉤虫駆虫剤の *in vitro* での効果判定には，主として鉤仔虫あるいはガマ線虫等が材料として用いられている。いうまでもなく鉤虫駆虫剤は成虫駆除のために用いられるのであつて，したがつて *in vitro* でのその効果判定も成虫を用いるのが至当と考えられるが，なお仔虫等がよく用いられているのは，これが実験材料として容易に得られるということや，成虫の生体外飼育に成功しなかつたこと等がその大きな理由になつていると思われる。しかしこゝで問題になるのは，仔虫等によつて得られた薬剤の効果が果して成虫におけるそれと同様であろうかという点であるが，これに関する検討はいまだない。すなわち既知の薬剤についてその効果を仔虫と成虫の両者について検討し，若し両者が同様の結果を示したとすれば，鉤虫駆虫剤の *in vitro* 試験が仔虫を用いてもなし得る可能性を示唆すると考えられるが，反対に両者における結果が違つたものであれば，仔虫を用いることはもはや意味のないことになる。

又，現在使用されている鉤虫駆虫剤のすべては，ほとんど水に不溶か或は難溶であつて，これら薬剤を *in vitro* で作用させる場合にはその稀釈方法が作用効果の重要な一要因となり得ると考えられるが，これも各研究者によつてまちまちというのが現状である。

筆者らは犬鉤虫成虫の生体外飼育を試みてある程度の成功をおさめ (Komiya, Yasuraoka & Sato, 1956)，それに基いて筆者は成虫の *in vitro* での行動を観察し報告した(安羅岡，1956)。又仔虫についても特に温度に対する動性について詳細に報告した(安羅岡，1955)。このように鉤虫の成虫および仔虫のそれぞれについてそれらの運動状態が把握されたので，これを対照として更に各種鉤虫駆虫剤の鉤仔・成虫の行動に対する影響を観察し，上述の問題に対する若干の知見を得ることが出来たのでこゝに報告する。

KAZUO YASURAOKA: The effect of various anthelmintics on the behavior of the larvae and adults of *Ancylostoma caninum in vitro*. (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

材料および方法

材料：本実験で用いた犬鉤虫仔虫は，感染仔虫 150〜200 個体を経口感染させた犬から得た虫卵を 28°C で瓦培養して得たものである。更に出来るだけ正常な，運動活潑な仔虫を得るように，又仔虫水を清浄にするために，これを再び瓦上にとり一昼夜経過後周囲の水中に游出した個体を用いた。実験は培養開始後 7〜14 日間に行つた。

又成虫は仔虫 150〜200 個体を犬に経口投与して 4〜5 週後に小腸を剖出し，37°C の Krebs-Ringer bicarbonate sol.＋0.5％ glucose (pH 7.4) (以下K-Ringer と略す) 中で切開して得たものを直ちに実験に供した。本実験を通じて用いられた犬は合計 13 頭であつた。

1つの case (1薬剤の1濃度) について最少，仔虫は 50 個体，成虫は♂♀ 5 対を用いた。

温度：薬剤の作用温度はその効果にいちじるしい影響をおよぼすと考えられるが，既に筆者が報告したように，成虫では 37°C 附近で最も安定した律動的運動を示し，又 *in vivo* での薬剤の作用ということも考え併せて，成虫については 37°C で実験を行うことゝした。又仔虫では 20〜35°C の広範囲にわたつて安定した律動的運動が見られる。そこで 20°C, 28°C および 35°C の各温度で，Thymol 1000 倍，Hexylresorcinol 2000 倍の水溶液で仔虫に対する効果の温度影響を観察した。その結果は Fig. 1 に示す通りで，20°C＜28°C＜35°C の順に効果の促進が認められた。したがつて作用温度に関しては特に注意をはらい，実験はすべて 20〜23°C の範囲内で行われた。

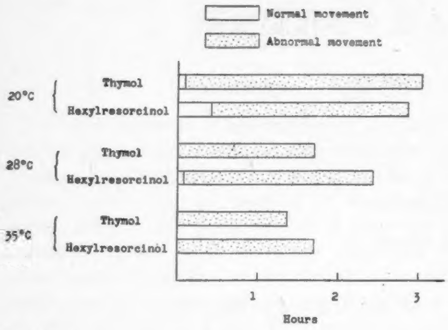


Fig. 1 Movement and survival of larvae in 1/1000 thymol and 1/2000 hexylresorcinol at various temperatures

運動の変化および生死の判別：駆虫剤の仔・成虫の行動におよぼす影響は，薬剤へ投入後の虫体の正常運動の消失，自発運動の消失，刺戟反応の消失までに要した時間を各虫体について測定し，その平均値を求めた。この場合，仔虫はたとえ水中にあつても刺戟が与えられないときは静止して全く自発運動が認められないことがあるので，仔虫の自発運動の有無については記載しなかつた。運動の変化は各観察時間毎に頭端の搏動数を測定し，この値を既に報告した正常運動のそれ（安羅岡，1955，1956）と比較して有意の差が認められたときに正常運動が消失したものと判別した。又生死は加温刺戟および機械的刺戟によつてもなお不動の個体を死と判別した。機械的刺戟には白金棒を用いたが，Trim (1944) も指摘しているように cuticle の機械的損傷が透過性を高めることが考えられるので，圧迫による障碍を与えぬように注意した。

観察時間：作用後 30 分迄は連続観察し，以後 6 時間迄 10 分間隔に行い，6〜12 時間では 30 分毎，それ以後は 1 時間毎に仔虫は 48 時間後，成虫では 24 時間迄行うのを原則としたが，これは効果の現われる状態によつて適宜伸縮された。観察時間を仔虫は 48 時間としたのはこれ以後では exsheath する個体が多く，したがつて体表の透過性がいちじるしく変ることが予想されたこと，又成虫で 24 時間としたのはこれ以後に control の正常運動の失われる個体が見られたことによる。

駆虫剤の稀釈方法：本実験で用いた駆虫剤は，Thymol, 1-Bromo-Naphthol (2)（以下 BN と略す），Hexylresorinol,（以下 HR と略す），Ascaridol (90 %),

Table 1 Solubility of various anthelmintics in water (Merck Index)

Anthelmintics	Solubility in water
Thymol	1 : 1000
1-Bromo-Naphthol (2)	1 : 30000
Hexylresorcinol	1 : 2000
Ascaridol	
Tetrachloroethylen	1 : 10000
Tetrachlorocarbon	1 : 2000

Tetrachloroethylen（以下四エと略す），および Tetrachlorocarbon（以下四炭と略す）の 6 種の鉤虫駆虫剤と，対照として用いた Piperazine hexahydrate の合計 7 種である。これら鉤虫駆虫剤は水にほとんど不溶かあるいは難溶で，水中の溶解度は第 1 表に示す通りである。そこでこれらを *in vitro* で虫体に作用させるにあたつては，現在迄多くの研究者によつて種々の稀釈法が用いられている。

笹田 (1934) は人鉤虫および東洋毛様線虫仔虫の鉤虫駆除剤に対する抵抗力を見るとき，Thymol はアルコールを溶媒として稀釈しているが，四炭およびヘノポジ油は原液のまゝ使用している。大浜 (1941) もアルコールを溶媒としてネマトール，Thymol について鉤仔虫の抵抗試験を行つている。中村 (1950) は HR を豚蛔虫に作用させるにあたり，粉末を直接虫体に塗布するか，0.1 %および 1.0 %生理食塩水にエムルジョンとして使用し，桐野 (1952) も HR をエムルジョンとして犬鉤成虫に作用させ，四エはエムルジョンの形にもならないので原液のまゝ用いたと述べている。又岩田ら (1953) は BN を乳鉢ですり微粒子として 1 %および 0.1 %加温水懸濁液とし，犬鉤成虫に対する影響を観察している。福本 (1955) は犬鉤仔虫に対し，BN, HR, Thymol およびヘノポジ油等を 1 %になるよう Tween 20 で溶解したものを用いて居り，松本 (1955) は Tween 80 を用いて犬鉤成虫に対する駆虫剤の殺虫効果を見ている。

以上を通覧すると，従来用いられている薬剤の稀釈，作用の方法は，(1) エムルジョンにする，(2) アルコール等の溶媒を用いる，(3) 原液のまゝ用いる，および (4) 界面活性剤を用いる，の 4 者に要約される。

水に難溶な鉤虫駆虫剤の *in vitro* で効果判定にあたつては，薬剤の稀釈方法によつて虫体に対する作用条件が異なり，したがつてその効果にも種々の影響をおよぼすと考えられる。そこで筆者は，次に述べるような 5 種

Table 2

Anthelmintics	Tween 20			Tween 80		
	Trans-missivity	Size of particle	pH	Trans-missivity	Size of particle	pH
Thymol	0.8%	<0.5μ	6.8	1.2%	<0.5μ	6.7
1-Bromo-Naphthol (2)	83.5%		6.1	80.0%		6.5
Hexylresorcinol	89.0%		6.1	88.8%		6.4
Ascaridol	96.5%		6.2	92.5%		6.4
Tetrachloroethylen	96.3%		6.5	81.0%		6.7
Tetrachlorocarbon	94.5%		6.1	61.5%	<1.0μ	6.7
Piperazine	97.0%		10.9	96.0%		10.9

Tween 20 (9 %) was used for blank (transmissivity=100 %)

の方法でそれらの比較を試みることゝした。

(1) 界面活性剤を用いる方法 非イオン性界面活性剤の Tween 20 および 80 の 0.9 cc に薬剤 0.1 g あるいは 0.1 cc を加えて完全に溶解させた後，仔虫の場合は水，成虫では K-Ringer 9 cc を加えて 100 倍液を作る。このときの液の濁度，particle の大きさおよび pH は第2表に示すごとくである。濁度は Tween 20 の 9.0 %液を blank (透過率=100 %) として光電比色計で測定した光透過率であらわしたが，Thymol は Tween 20 で 0.8 %，Tween 80 で 1.2 %を示して白濁しているが，particle は 0.5 μ 以下でブラウン運動が見られた。四炭も Tween 80 で透過率 61.5 %を示しわずかに白濁するが，particle は 1.0 μ 以下であつた。その他はすべて透過率 80 %以上で，ミセル形成による可溶化が見られほとんど透明であつた。1/1000 および 1/10000 倍液でも，Tween 濃度は 9.0%になるよう調製した。美間ら (1953) も言つているように，界面活性剤の生体に対する毒性はきわめて弱いとされているが，Tween 20 および 80 の 10 %，20 %，30 %液のそれぞれで仔虫と成虫に対する影響を観察したのが Fig. 2，Fig. 3 である。仔虫はそれらの 30 %の濃度でも 48 時間以内に運動への影響は認らめれなかつたが，成虫では 10 %でも図に見られるような影響を認めた。

(2) 水に直接溶解する方法

第1表に示す駆虫剤の水可溶限界量，およびそれ以下の濃度で作用効果を見る。

(3) Propylene glycol を用いる方法 Propylene glycol 2 cc に薬剤 10 mg を溶解後，徐々に水を加えて全量 10 cc とし，1,000 倍液を作る。したがつて Propylene glycol は 20 %液となるが，これは 20 %以下の濃度では BN の溶解が不可能であつたことによる。Propylene glycol を用いて溶解可能なのは，Thymol，BN および HR の3種で，他の薬剤は不可能であつた。Propylene glycol 単独の仔・成虫におよぼす毒性を調べたが (Fig. 2, 3)，仔虫においてもかなりの毒性が認められ，特に成虫のそれはきわめて強い。そこで成虫については Propylene glycol を用いず，仔虫についてのみ使用することゝした。

(4) エムルジョン法 粉剤 (Thymol, BN, HR) を乳

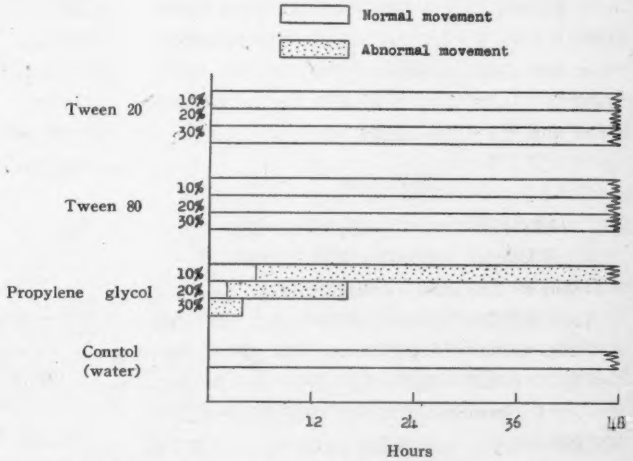


Fig. 2 Movement and survival of larvae in various dilutions of Tween 20, 80 and propylene glycol with water

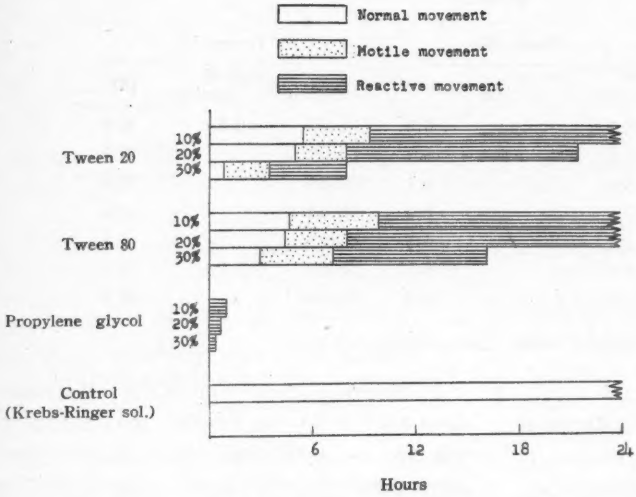


Fig. 3 Movement and survival of adults in various dilutions of Tween 20, 80 and propylene glycol with Krebs-Ringer solution

鉢でよくすり，微粒子として徐々に水を加え 1000 倍液を作ろうとしたが，Thymol と HR は結晶が凝集してエムルジョンの状態にならず，又油剤（Ascaridol, 四エ，四炭）もエムルジョンにならないので，BN についてのみ実験を行つた。BN でも時間の経過にともなつて沈澱するのでしばしば攪拌するようにした。

(5) 原液のまゝ用いる方法　Ascaridol, 四エ，四炭を原液のまゝ作用させるのであるが，この場合虫体周囲の water film が薬剤との接触を妨げないように，虫体を解剖針でつり上げ体の一部をろ紙にふれさせて体表の water film をとり直ちに薬液に入れるようにした。

実験成績

1. 仔虫の行動におよぼす各種駆虫剤の影響

(1) 界面活性剤で水溶にした駆虫剤の影響

Tween 20 で水に溶解した駆虫剤の $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$ および $^1/_{10000}$ の各濃度における，48 時間にわたる観察の結果は Fig. 4 の如くである。Thymol, BN, HR は $^1/_{100}$ の高濃度でも仔虫の運動には全く影響が見られなかつた。しかし Ascaridol では $^1/_{100}$ で投入後 30〜40 分で正常運動が消失し，以後不規則な運動が続くが次第に緩慢となり，平均 10 時間 20 分後に伸展状となつて死滅した。$^1/_{1000}$ では 25 時間迄正常運動を示し，以後不規則な運動であるが 48 時間後でも死滅せず，$^1/_{10000}$ では全く影響が認められなかつた。四エでは $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$ ともに投入後 1〜2 分でふるえるような不規則運動を呈し，$^1/_{100}$ では平均 21 時間 50 分，$^1/_{1000}$ では 42 時間 20 分で死滅した。しかし $^1/_{10000}$ では効果が見られなかつた。四炭も $^1/_{10000}$ では運動に変化は見られなかつたが，$^1/_{100}$, $^1/_{1000}$ 共に作用後 1〜2 分でふるえ運動となり，$^1/_{100}$ で平均 21 時間後，又 $^1/_{1000}$ で 43 時間 30 分後に死滅した。

上述のような結果は Tween 80 でもほとんど同様に見られた。

(2) 水に溶解された駆虫剤の影響

結果は Fig. 5 に示すように，界面活性剤を用いた場合よりもはるかに著しい薬剤効果が見られた。Thymol の水可溶限界濃度 $^1/_{1000}$ では 5 分後に不規則動運が始まり，緩慢なのたくり運動から平均 2 時間 50 分後に死滅した。$^1/_{2000}$ では 10 分後に正常運動が消失し，以後 48 時間にいたつてものた

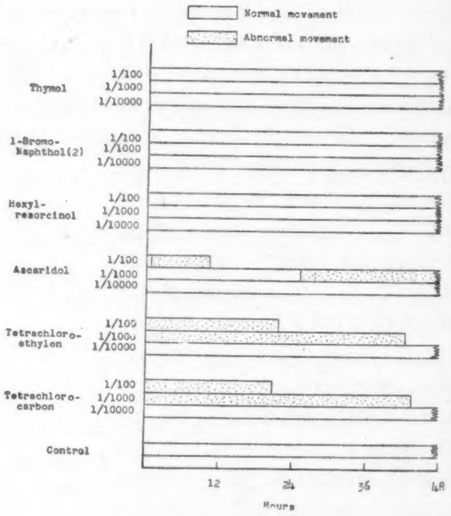


Fig. 4 Movement and survival of larvae in various dilutions of various anthelmintics with Tween 20

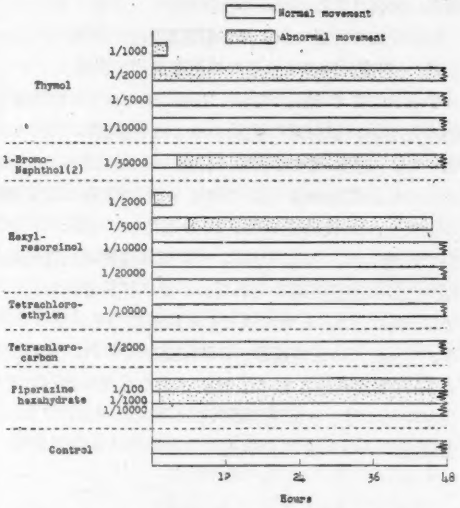


Fig. 5 Movement and survival of larvae in various dilutions of various anthelmintics with water only

くり運動が見られたが，1/3000 および 1/10000 では全く影響が認められなかつた。BN 1/30000 中では4時間後迄正常運動を示し，以後活潑な不規則運動を見せるが48時間後でも2%死滅するのみであつた。HR は 1/20000 で30分後迄正常運動，以後不規則運動となり体前端から黒化しはじめるとともに，平均2時間50分で死滅した。1/5000 では5時間50分迄正常運動が見られたが，以後不規則な運動から平均46時間30分後に死滅した。しかし 1/10000，1/20000 では48時間以上にわたり正常運動が持続

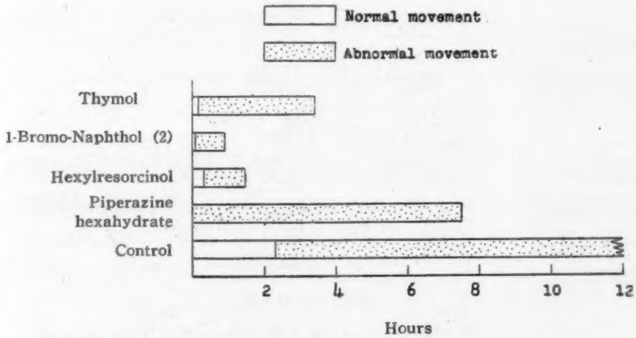


Fig. 6 Movement and survival of larvae in 1/1000 dilution of various anthelmintics with propylene glycol

した。四エ 1/10000，四炭 1/2000 では仔虫に影響が全然見られなかつた。Piperazine は 1/100 で投入後10分でほとんど静止し，時々2〜3回頭端搏動して又静止するという状態になり，1時間後には伸展状で全く静止し，機械的刺戟を与えると4〜5回搏動し，5時間後には刺戟を与えても1〜2回搏動するのみで直ちに静止し，このような状態が48時間後にも見られるが死滅する個体はない。1/1000 でも同様の結果が認められたが，1/10000 では48時間にわたつて正常な運動を示した。

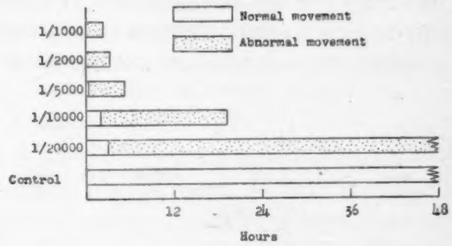


Fig. 7 Movement and survival of larvae in emulsion of various dilutions of 1-bromo-naphthol (2)

(3) Propylene glycol で水溶にした駆虫剤の影響

実験は 1/1000 倍の濃度で行い，結果は Fig. 6 に示した。Thymol は7分で正常運動が消失してノタクリ運動となり平均3時間25分で死滅した。BN は5分で不規則なふるえ運動となつて50分で死滅し，HR は12分で運動は不規則となり，体前端から黒化し始めるとともに平均1時間25分で死滅した。

(4) BN エムルジョンの影響

Fig. 7 に示すように，1/1000 および 1/2000 では投入後1〜2分でふるえ運動となり，1/1000 で平均2時間20分，1/2000 では3時間40分で反応は見られなくなる。1/5000 では5分後まで正常運動，平均4時間50分後に死滅した。1/10000，1/20000 はそれぞれ平均2時間10分，2時間40分まで正常運動を示し，1/10000 は平均19時間10分で死滅するが，1/20000 では48時間にいたるも活潑な不規則運動を示した。

(5) Ascaridol，四エ，四炭の影響

Ascaridol，四エ，四炭のいずれにおいても仔虫は投入直後に全く運動しな

くなるので，浸漬後の種々の時間に再び水中にもどして運動の恢復状態を調べた。Ascaridol は投入してから 30 秒後に水中にもどすと，反応は残るが 10 分後に死滅し，投入 1 分後では水中にもどしても反応を示さなくなる。四エでは投入後 20 分迄は水中にもどすと仔虫は 10 分以内に再び正常運動を恢復するが，投入後 40 分では正常運動恢復迄に 3 時間を要し，投入後 1 時間のそれは 24 時間を要した。そして浸漬が 1 時間以上にわたるともはや仔虫は正常運動を恢復しなかつた。四炭では投入後 3 分迄は 10 分以内に正常運動を示すようになるが，浸漬が 20 分になると恢復に 3 時間を要し，50 分浸漬では 24 時間を要するようになり，50 分以上になると正常運動の恢復は見られなかつた。

2. 成虫の行動におよぼす各種駆虫剤の影響

(1) 界面活性剤で水溶にした駆虫剤の影響

Tween 20 で $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$, $^1/_{10000}$ のそれぞれの濃度に水溶化された駆虫剤の成虫におよぼす影響は Fig. 8 の如くで，成虫に対する影響は仔虫のそれに比べてはるかに大きい。Thymol $^1/_{100}$ では♂♀共 1〜2 分で正常運動が消失し，以後自発運動が 10 分迄見られるが，平均 55 分で死滅した。$^1/_{1000}$, $^1/_{10000}$ では正常運動期，自発運動期および刺戟反応期のそれぞれが更に延長された。BN では $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$ ともにほとんど同様の効果が見られたが，$^1/_{10000}$ では正常運動が 3 時間迄認められ，その生存も 19 時間迄延長された。HR は他の薬剤に比べてその生存時間に対する正常運動時間が長く，$^1/_{1000}$ で♂の正常運動が平均 1 時 50 分後迄で生存時間は 4 時間 20 分，

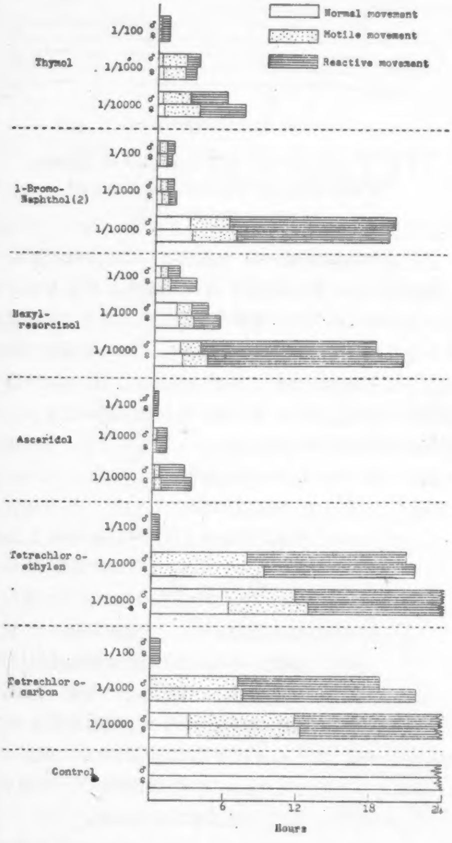


Fig. 8 Movement and survival of adults in various dilutions of various anthelmintics with Tween 20

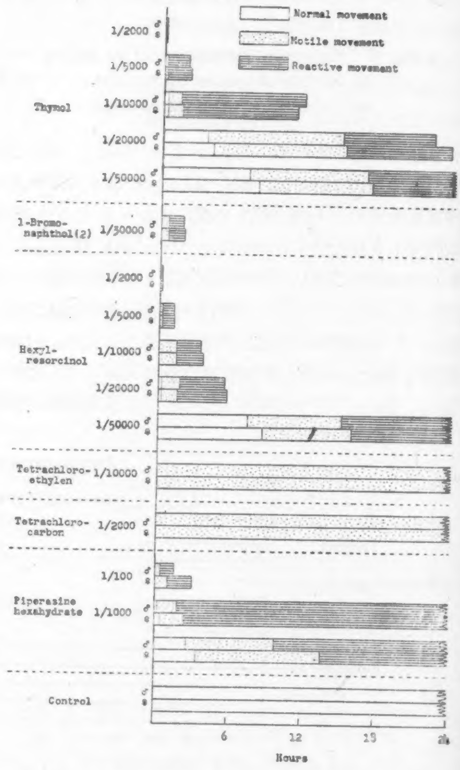


Fig. 9 Movement and survival of adults in various dilutions of various anthelmintics with water only

♀は正常2時間，生存時間5時間20分であつた。刺戟反応期の末期には体の頭端から黒化が始まり，刺戟反応とほとんど同時に及ぶ現象，又 Lamson (1935) が見たような体表 cuticle 層の水泡状膨化が認められた。Ascaridol の効果は強く，1/100 で直後に自発運動も消失し20分で刺戟不応となり，1/10000 でも正常運動は3分で消失し，♂2時間40分，♀3時間10分で死滅した。四エおよび四炭はほとんど同様の結果を示し，1/100 では直ちに自発運動が消失し，四エでは35分，四炭で45分でそれぞれ死滅したが，1/1000 になると直後から正常運動は見られないが，その生存は18時間以上にわたつた。上述のような結果は Tween 80 でも，ほとんど同様に認められた。

(2) 水に溶解された駆虫剤の影響

仔虫の場合と同様に，界面活性剤を用いたときよりははるかにいちじるしい薬剤効果が認められた(Fig. 9)。Thymol は 1/2000 で最初から不規則なノタクリ運動となり，5分で自発運動も消失し平均10分で全く反応を失つた。そして 1/20000 でも平均♂3時間40分，♀4時間10分で正常運動が消失し，♂は22時間10分，♀23時間30分で死滅した。BN は 1/30000 で最初から正常運動は見られずに20分で静止し，♂1時間45分，♀2時間で死滅した。HR は 1/2000 で1分後に静止し，12分で反応を失つた。そして 1/20000 でも正常運動は♂♀ともに平均20分続くが，♂1時間40分，♀1時間30分で自発運動もなくなり，♂5時間20分，♀5時間30分で死滅した。体の黒化および体表の水泡状膨化は Tween の場合と同様に認められた。四エの 1/10000，四炭の 1/2000 では最初から正常運動が消失したが，24時間以上にわたつて活潑な自発運動が認められた。Piperazine の反応運動期では，成虫の刺戟に対する反応形式が前述の仔虫の場合と全く同様であつた。

(3) BN エムルジョンの影響

Fig. 10に示すように，1/1000 で♂は2分，♀3分で不規則なふるえ運動となり，♂は9分，♀は12分で刺戟反応を消失した。1/2000 から 1/5000 になると正常運動，自発運動，生存時間も少しづゝ延長されたが，1/10000 でもなお正常運動は♂9分，♀10分で消失し，不規則な自発運動から♂24分，♀27分で死滅した。

(4) Ascaridol，四エ，四炭の原液の影響

成虫を四エに投入すると約5秒で全く静止し，1分浸漬後に K-Ringer にもどすと直ちに自発運動を示し，3時間後には正常運動を恢復した。しかし5分浸漬では

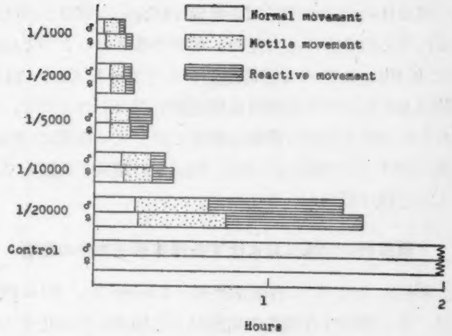


Fig. 10 Movement and survival of adults in emulsion of various dilutions of 1-bromo-naphthol (2)

K-Ringer にもどしても自発運動を恢復するのみで，24時間後では正常運動は恢復しなかつた。更に10分浸漬後では虫体は刺戟反応も示さなくなつた。四炭でも投入後5秒で静止し，1分後に K-Ringer にもどすと刺戟反応は見せるが，24時間後でも自発運動を恢復しなかつた。5分浸漬後では刺戟反応も消失した。Ascaridol では1分浸漬ですでに刺戟反応すら認められなかつた。

(5) 食道を結紮した成虫におよぼす影響

上述のように，成虫における薬剤効果は仔虫のそれに比べていちじるしく大きい。その原因の1として成虫では薬剤が体表から透入すると共に，口から入つた薬剤が消化管壁からも透入するということが考えられる。そこ

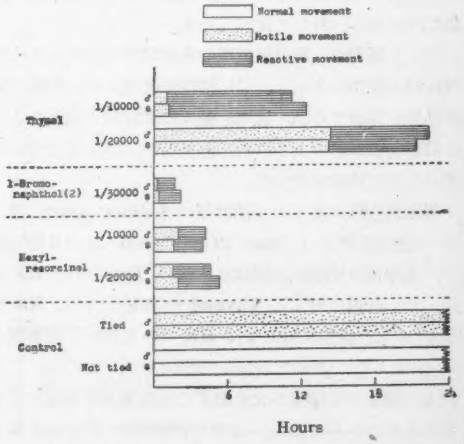


Fig. 11 Effect of anthelmintics on adults which esophagus was tied

で成虫体の食道の中間部を毛髪で結紮し，薬剤が消化管内に入らぬようにして見た。こうすることによつて成虫は K-Ringer 中でも正常運動を示さなくなるが，24時間以上にわたつて活潑な自発運動が認められたので，これらに対する薬剤の影響を観察した。その結果は Fig. 11の通りで，結紮をしない Fig. 9の結果と比較してほとんど差は認められなかつた。

駆虫剤の効果におよぼす各種界面活性剤の影響

前述したように界面活性剤—Tween 20，80の添加は，水に難溶な各種鉤虫駆虫剤を高濃度に可溶化する利点をもつと同時に，又その効果をいちじるしく抑制することが明らかにされた。Trim (1944)は HR の濃度を一定にし，その溶液中に活性剤 Sodium oleate を加えてゆくと，HR の透入率が漸減し，ある一定濃度で完全に透入抑制の起ることを認めた。更に Alexander *et al* (1946)は Sodium oleate, Cetyltrimethyl ammonium bromide でも高濃度では同様の抑制を認め，しかも一定の稀釈範囲では逆に HR透入に促進的に働くことを明らかにした。又万波 (1952) はガマ線虫に対する HR の殺虫効果が，陽イオン活性剤の Cetylmethyldiethyl ammonium menthosulfate, Cetylmethyl piperidinium menthosulfate, 陰イオン活性剤の Sodium oleate, Dioctylester of sodium sulfosuccinic acid, 非イオン活性剤の Span 20の各々の低濃度で HR の効果が促進され，高濃度で抑制されることを観察し，非イオン活性剤でも Tween 系のそれは促進効果を見ることなしに抑制だけがあらわれたと述べている。

そこで筆者は，鉤虫駆虫剤の水溶解性を高めるための活性剤の添加にさいし，(1) 活性剤濃度がどの程度で薬剤効果を抑制するか，又 (2) 種々の活性剤で促進あるいは抑制効果がどのようにあらわれるか，の2点について次のような実験を行つた。

界面活性剤は陰イオン活性剤の Sodium oleate, 非イオン活性剤として Span 20 と Tween 20の3種を用い，駆虫剤は比較的高濃度に水溶の Thymol と HR を用いた。仔虫に対する Thymol の濃度は 1/1000, HR は 1/2000 とし，成虫に対しては HR のみを用いその濃度は 1/20000 とした。成虫で 1/20000 の濃度を用いたのは，これ以上の濃度では効果が大き過ぎて促進効果を見落すことをおそれたからである。この一定濃度の Thymol および HR に，0.001％，0.002％，0.005％・・・・0.1％，0.2％および0.5％になるよう活性剤を添加し，仔・成虫におよぼす影響を観察した。Sodium oleate は K-Ringer で油酸イオンと Ca イオンの結合による沈澱が出来るので，稀釈には0.85％ NaCl 液を用いた。

(1) Sodium oleate

仔虫に対する Thymol 効果への影響は Fig. 12に示すように，Sodium oleate 量が0.001％から0.01％と増量してもその効果にはなんらの影響も与えることなしに，0.2％から急激な抑制が見られた。又 HR では Sodium oleate の0.001％～0.01％の範囲で僅かに促進らしい傾向が認められ，そして0.02％から抑制があらわれた (Fig. 13)。

成虫に対する HR 効果は Fig. 14に示すように，Sodium oleate の0.002％から次第に促進があらわれ，0.02％から0.1％の間で最大となり，0.2％から抑制があらわれた。

(2) Span 20

仔虫に対する Thymol 効果への Span 20の影響は Fig. 15に示すように0.002％の低濃度から徐々に抑制が見られ始め，0.1％からそれは更に強く見られた。HR では Span 20の0.02％から抑制が起り，0.05％から0.1％になると更に強く抑制された (Fig. 16)。

成虫に対する HR でも Fig. 17のように促進を見ることなく0.1％から急速に抑制された。

(3) Tween 20

仔虫に対する Thymol 効果への Tween 20の影響は Fig. 18に示すように Span 20の場合と同様，促進を見ることなく0.1％から抑制があらわれた。HR でも促進を見ることなしに，0.05％から急速な抑制が見られた (Fig. 19)。

成虫に対する HR 効果でも Tween 20は促進効果を示さずに，0.1％からの強い抑制だけが顕著に認められた (Fig. 20)。

上述の Sodium oleate による薬剤効果の促進又は抑制は，Alexander らも述べているように活性剤の添加によつて溶液の界面張力が下降し，それと同時に薬剤の透入が増加し，そしてそれ以上に活性剤の濃度が増加すると再び界面張力が上昇することにより薬剤の透入が減少するのであろう。Span 20や Tween 20においては HR あるいは Thymol との結合が強固なために，石鹸を残して薬剤分子の透入が困難となり，抑制だけが見られたと考えられる。

いずれにしても薬剤の効果を抑制しないためには，活性剤の濃度は Sodium oleate ならば0.01％以下，

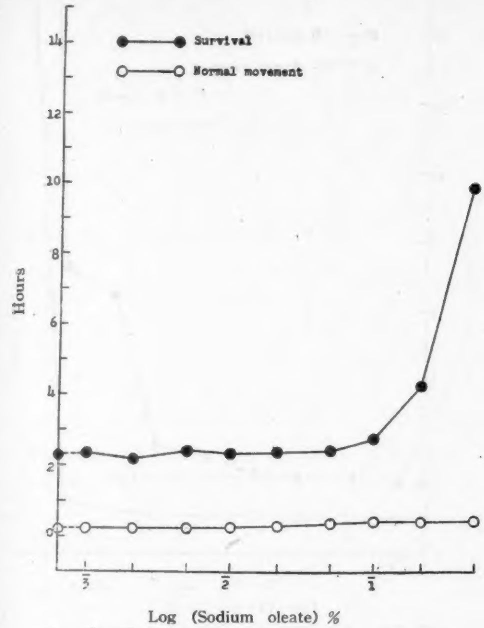


Fig. 12 Movement and survival of larvae in 1/1000 thymol solution adding various amounts of sodium oleate

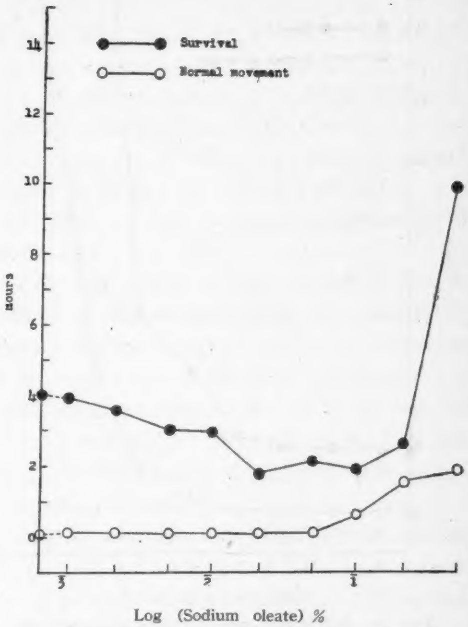


Fig. 14 Movement and survival of adults in 1/20000 hexylresorcinol solution adding various amounts of sodium oleate

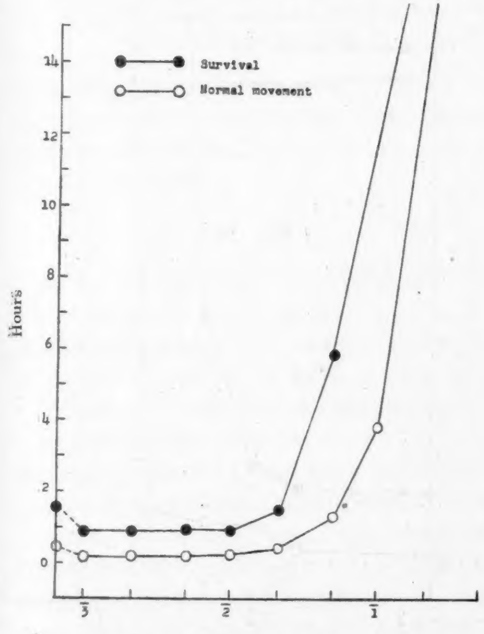


Fig. 13 Movement and survival of larvae in 1/2000 hexylresorcinol solution adding various amounts of sodium oleate

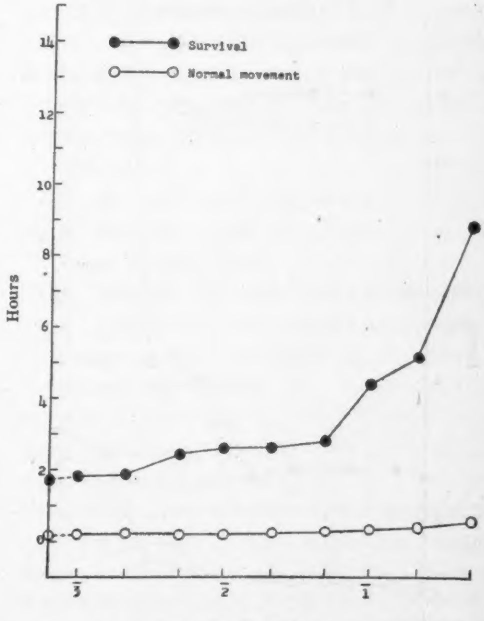


Fig. 15 Movement and survival of larvae in 1/1000 thymol solution adding various amounts of Span 20

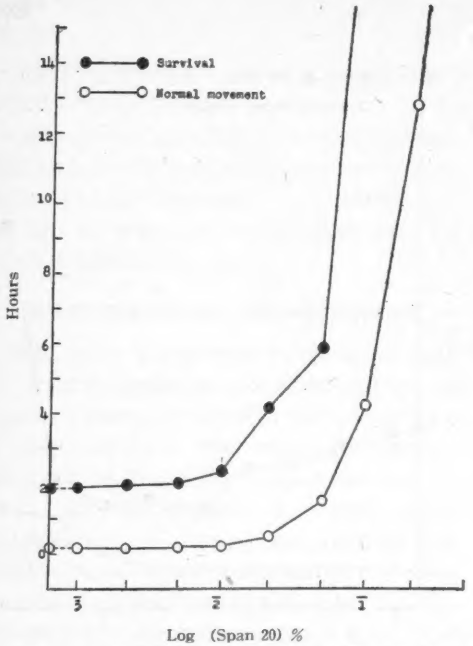


Fig. 16 Movement and survival of larvae in 1/2000 hexylresorcinol solution adding various amounts of Span 20

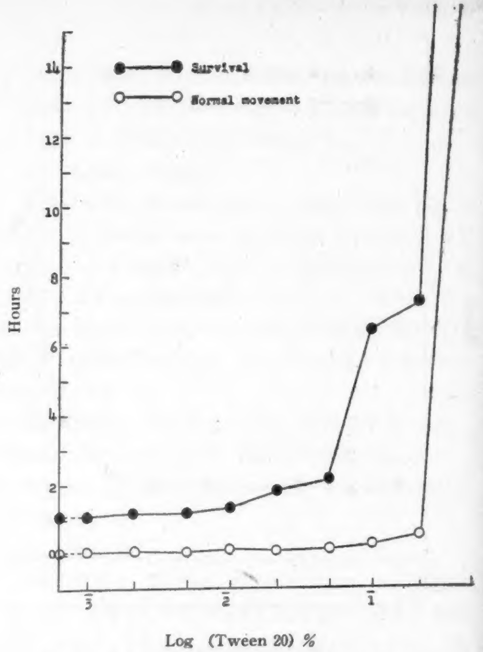


Fig. 18 Movement and survival of larvae in 1/1000 thymol solution adding various amounts of Tween 20

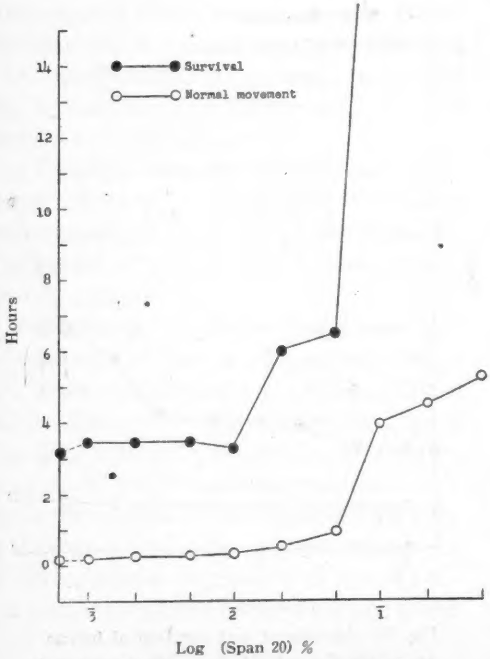


Fig. 17 Movement and survival of adults in 1/20000 hexylresorcinol solution adding various amounts of Span 20

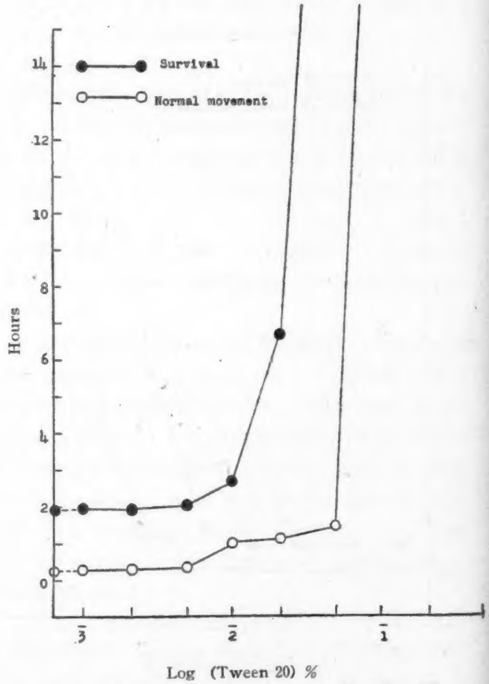
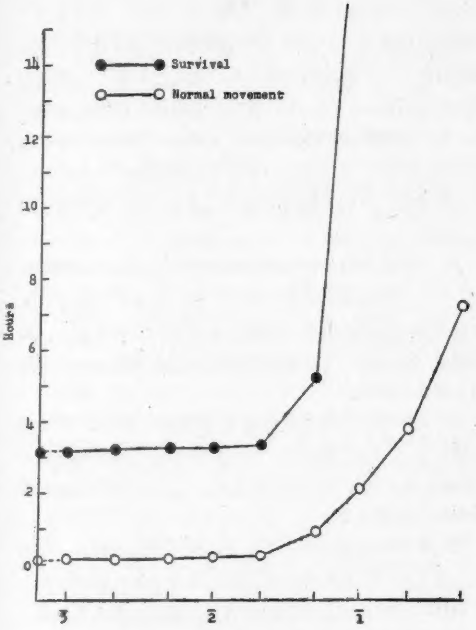


Fig. 19 Movement and survival of larvae in 1/2000 hexylreorcinol solution adding various amounts of Tween 20



Log (Tween 20) %

Fig. 20 Movement and survival of adults in 1/20000 hexylresorcinol solution adding various amounts of Tween 20

Span 20 で 0.002 %以下，Tween 20 で 0.02 %以下でなければならないが，これらの低濃度では難溶な鉤虫駆虫剤を水への可溶限界量以上に可溶化ないしエムルジョン化することは出来ない。

論　議

既にまえがきに提出したように，鉤虫駆虫剤の *in vitro* での効果判定にあたつて最も問題になるのは，(1) 水に難溶な鉤虫駆虫剤をどのような稀釈方法によつて作用させるか，(2) 材料として成虫を用いるべきか，あるいは仔虫を用いても可能か，の 2 点であると考えられる。

水に難溶な駆虫剤を 100 倍，1000 倍というように高濃度に溶解させる現在最もすぐれた方法は，界面活性剤―とりわけ HLB (Hydrophilic Lipophilic Balance) 値の高い Tween 系―を用いることである。しかも Tween 系活性剤の生体に対する毒性は一般に少いとされ，筆者も鉤仔虫の行動には 30 %の濃度でも影響を認めず，成虫において若干それを認めるのみであつた。しかし界面活性剤には薬剤の効果を促進あるいは抑制する現象が見られ，特に Tween 系は低濃度から抑制効果をあらわす。そして抑制効果が現われないような活性剤の濃度では，駆虫剤をその可溶限界量以上に水に可溶化ないしエムルジョン化することは不可能である。福本および松本は Tween 20 又は 80 を用いて駆虫剤を水に溶解し，その効果を観察しているが，Tween には薬剤効果の抑制作用のあるということに気がついていない。

薬剤が溶解したときの安定度，作用条件の一定等から考えれば，駆虫剤の可溶限界量まで水に直接溶解して虫体に作用させるのが最も望ましい。そしてこれは成虫に対しては最もすぐれた方法であると思われるが，この方法は現在迄全く行われていない。しかし Thymol, HR のような比較的高濃度に水溶するものは別として，BN, 四エ，四炭等はその水への可溶量では仔虫に対してなんらの効果も認められない。

又，Propylene glycol はその強い毒性の点から成虫に対して用いることは出来ず，辛うじてエムルジョンになり得るのは BN のみであり，原液として使用し得るものは Ascaridol, 四エ，四炭だけである。

一方，どのような溶解方法を用いても，又作用温度が仔虫は 20〜22°C，成虫は 37°C ということを考慮に入れても，駆虫剤の仔虫に対する効果と成虫に対するそれとの間には，大きな隔りが認められ，成虫での効果は仔虫のそれに比べていちじるしく大きい。又種々の方法によつて溶解された各種駆虫剤の仔，成虫に対する効果を，その大きさの順に列記すれば次のようになる。

水溶の場合

仔虫　BN＞HR＞Thymol＞四エ≒四炭

成虫　BN＞HR＞Thymol＞四エ≒四炭

Tween 20 を用いた場合

仔虫　Ascaridol＞四エ≒四炭＞Thymol≒BN≒HR

成虫　Ascaridol＞BN＞Thymol＞HR＞四エ≒四炭

Propylene glycol を用いた場合

仔虫　BN＞HR＞Thymol

原液のまゝ用いた場合

仔虫　Ascaridol＞四炭＞四エ

成虫　Ascaridol＞四炭＞四エ

すなわち同じ仔虫でも又成虫でも，駆虫剤の稀釈方法によつて効果の系列にくいちがいが認められる。又駆虫剤を水溶の状態で作用させると，仔虫において得られた効果の系列は成虫のそれとよく一致するが，Tween 20 を用いて水溶にした場合は，仔虫における効果系列と成

虫のそれとの間にかなりの相違が認められる。

薬剤の接触という観点から考えられる仔虫と成虫の体制上の大きな相違は，体表構造，口腔の閉鎖状態の有無，体の大きさ等にあると思われる。仔虫は皮鞘で包まれ口は外に開いていないが，成虫は吸血のための強い吸引力をもつた食道部を従える口を有するので，特に成虫では薬剤が体表から接触すると共に，*in vitro* では消化管壁からの透入ということも考えられるが，これはFig. 11の実験からして一応無視しても差支えないと思われる。そして虫体の大きさも成虫は仔虫に比べてはるかに大きく，したがつて体積に比して表面積は仔虫の方が広く薬剤の接触面も広いわけであるが，効果は逆に成虫に強くあらわれているから，この点も一応考慮の外に置いてもよいであろう。しかし仔虫の体表が皮鞘でおゝわれ，その故に外界の種々の物理的化学的条件に対する抵抗も強く，そして脱鞘した仔虫の抵抗力が著しく減ずることは，既に多くの学者によつて認められている処である。成虫が恒温動物の腸内という比較的単純な変動の少い環境に生存するのに比べて，仔虫は外界の複雑な環境条件下で長期にわたつて感染機会をまつという生態的な面からも，仔虫の皮鞘の存在はきわめて好適な適応ともいえるわけである。そしてこれが仔虫と成虫との間における薬剤効果のいちじるしい相違の最大の原因になつていると考えられる。

すなわち仔虫と成虫とでは薬剤の透入に大きな相違があり，駆虫剤は成虫に対して用いるものであり，又今日既に成虫の生体外飼育が可能であるという諸点から，駆虫剤の *in vitro* での効果判定には成虫を用いるのが適当と考えられる。

以上述べてきた種々の観点からして筆者は，鉤虫駆虫剤の *in vitro* での効果判定は次のような方式によつて行われることを提唱したい。(1) 材料は成虫を用いる。(2) 薬剤は可溶量の水溶として作用させる。(3) 若し(2)が不可能の際は界面活性剤を用いるが，これには薬剤効果の促進あるいは抑制作用のあることに注意する。しかし(4) Thymol の1000倍，HR の2000倍のように比較的多量に水に可溶な薬剤については，それらとの比較において仔虫を材料にすることも可能で，又(5) エムルジョンになるものは BN との比較が出来，(6) 油剤のものは原液のまゝ使用して Ascaridol，四エ，四炭との比較が出来る，と考えられる。

要　約

鉤虫駆虫剤の *in vitro* での効果判定にさいして，(1) 実験材料として鉤成虫を用いるべきか，あるいは仔虫を用いても可能か，(2) 水に難溶な駆虫剤を作用させるには，その稀釈方法が作用効果の重要な一要因となると考えられるが，そこでどのような方法を用いるのがよいか，の2点について検討を試み，次のような結果を得た。

(1) 仔虫と成虫とでは薬剤効果にいちじるしい差がある。そして駆虫剤は成虫に対して用いるものであり，又今日成虫の生体外飼育が可能であるという諸点から，駆虫剤の *in vitro* での効果判定には成虫を用いるのが適当と考えられる。

(2) 水に難溶な鉤虫駆虫剤を高濃度に水溶にする現在最もすぐれた方法は，HLB 値の高い界面活性剤の Tween 系を用いることであるが，これは低濃度から薬剤効果を抑制する。

(3) 薬剤が溶解したときの安定度，作用条件の一定等から考えれば，駆虫剤の可溶限界量まで水に直接溶解して虫体に作用させるのが最も適当な方法と考えられる。

そこで鉤虫駆虫剤の *in vitro* での効果判定は次のような方式によつて行われることを提唱する。(1) 材料は成虫を用いる。(2) 薬剤は可溶量の水溶として作用させる。(3) 若し(2)が不可能の際は Tween 系界面活性剤を用いるが，これには薬剤効果の抑制作用のあることに注意する。しかし(4) Thymol の1000倍，Hexylresorcinol の2000倍のように比較的多量に水に可溶な薬剤については仔虫を材料にすることも可能で，又(5) エムルジョンになるものは BN との比較が出来，(6) 油剤のものは原液のまゝ使用して Ascaridol，四塩化エチレン，四塩化炭素との比較が出来る。

稿を終るにあたり，終始御指導御鞭撻をたまわり，御校閲の労をとられた部長小宮義孝博士に深く感謝の意を表する。又御助言を頂いた石崎達博士，実験にあたつて種々御援助を願つた田中清子嬢に感謝する。

文　献

1) Alexander, A. E., *et al.* (1946) : The biological activity of phenolic compounds. The effect of surface active substances upon the penetration of hexyl resorcinol in to *Ascaris lumbricoides var suis*. Proc. Roy. Soc. Ser. B, 133, 220-234. — 2) 福本圭士 (1955) : 鉤虫の呼吸及び組織呼吸に関

する研究，寄雑，4, 180. —3) 岩田繁雄・他 (1953)：一新鉤虫駆虫剤の研究，4 ブローム 1 ナフトールに就て，大阪医大雑，14, 26. —4) 岩田繁雄・他 (1954)：鉤虫駆虫剤の効果判定について，寄雑，3, 125. —岩田繁雄・他 (1954)：1 ブロム 2 ナフトールの犬鉤虫 *Ancylostoma caninum* 成虫に及ぼす影響，パンフレット．—6) 桐野明夫 (1952)：ヘキシールレゾルシン並びに四塩化エチレンの作用機転に関する実験的研究，第一報～第三報，岡山医雑，64, 47-59. —7) Komiya, Y., Yasuraoka, K. & Sato, A., (1956)：Survival of *Ancylostoma caninum in vitro.* (1), Jap. J. Med Sci. Biol., 9, 283-292. —8) 小宮義孝 (1955)：鉤虫駆虫剤，診療，8, 40-48. —9) Lamson, P. D., *et al.* (1952)：Anthelmintic studies on alkylhydroxybenzens, J. Pharm. Exp. Therap. 53, 198. —10) 万波忠三郎 (1952)：Cyclohexylchlororesorcinol のガマ線虫 (*Spinicauda japonica* Wilkie) 殺滅効力におよぼす界面活性剤の影響，日薬理雑，48, 159-171. —11) 松本季彦 (1955)：犬鉤虫成虫の体外飼育法による各種駆虫剤の殺虫効果判定に関する研究，大阪市大雑，4, 386-400. —12) 美間博之 (1953)：界面活性剤の生理作用と新しい応用——特に非イオン性活性剤について——，化学の領域，7, 689-698. —13) 中村逸郎 (1950)：豚蛔虫駆虫剤（就中アルキルレゾルシン）の駆虫機転に関する研究（第1報～第6報），大阪医大雑，11, 84-91, 12, 28-41. —14) 日本化学会編 (1956)：実験化学，7, 界面化学，丸善．—15) 大浜信賢 (1941)：*Necator americanus* 並び *Ancylostoma duodenale* の成熟仔虫の諸種化学薬品に対する抵抗試験，台湾医雑，40, 2100-2113. —16) 笹田丁二 (1934)：Ancylostoma 種 Necator 種人十二指腸虫並びに東洋毛様線虫感染仔虫に対する諸種化学薬品の影響について，慶応医学，14, 1331-1364. —17) Trim, A. R. (1944)：Experiments on the modes of action of hexylresorcinol as an anthelmintic. Parasit. 35, 209. —18) 山崎英正 (1955)：駆虫薬の薬理，診療，8, 21-31. —19) 安羅岡一男 (1955)：鉤虫仔虫の行動に関する研究，1, 犬鉤虫 *Ancylostoma caninum* 感染仔虫の温度に対する動性 Kinesis について，寄雑，4, 74-78. —20) 安羅岡一男 (1956)：犬鉤虫 *Ancylostoma caninum* 成虫の *in vitro* での行動に関する研究，寄雑，5, 457-461.

Summary

The effect of seven anthelmintics (thymol, l-bromo-naphthol (2), hexylresorcinol, ascaridol, tetrachloroethylen, tetrachlorocarbon and piperazine) on the behavior of the larvae and adults of *Ancylostoma caninum in vitro* was studied.

Anthelmintics for hookworm is slightly soluble in water as shown in Table 1, so various dilution methods were performed. Although the solubility of anthelmintics in water was increased by the addition of surface active agents such as Tween 20 or 80, Tween, at the same time, exert an inhibitory effect on anthelmintics. The resistance of the larvae against the anthelmintics was stronger than that of the adults.

The assay of effectiveness of anthelmintics *in vitro* was considered to be performed by the following procedures. (1) The adult is to be used as materials. (2) Anthelmintics is to be diluted directly with water within the limits of the solubility. (3) If the procedure of (2) is impossible, anthelmintics is to be made soluble in water by use of the surface active agents such as Tween 20 or 80. (4) The larvae may be able to be used as materials for some anthelmintics which shows comparatively high solubility in water such as thymol and hexylresorcinol. (5) The effect of anthelmintics capable becoming an emulsion in water may be compared with that of l-bromo-naphthol (2). (6) Liquid anthelmintics may be compared with ascaridol, tetrachloroethylen and tetrachlorocarbon without diluting.

豚蛔虫卵蛋白膜に対する豚胆汁及び細菌の影響について

中山クニ子
国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和31年12月25日受領)

豚蛔虫卵蛋白膜は，子宮より取り出したまゝでは非常に膨化していて，強い粘着性をもつている。この蛋白膜を糞便中のものゝように緊縮した状態にしたいと思い，これを種々の溶液に浸漬して，その緊縮度の変化を観察していたところ，たまたま，豚胆汁に浸漬して30°Cに2〜3日保存すれば，蛋白膜が完全に除去されてしまうという現象に気が付いた。そこで，この蛋白膜の融解除去現象を追求してみて，興味ある知見を得ることが出来たので，こゝにその概要を報告する。

実験及びその結果

1. 豚蛔虫の子宮下部2cmの部位より，普通の操作で取り出した虫卵を，濃度75%以上の豚胆汁に浸漬し，30°Cに保存すると，24時間で蛋白膜の融解除去が始まり，72時間で完全に除去される。

2. 前記実験の際に，保存温度を0°Cにすると120時間を経過しても蛋白膜は融解除去されない。

3. 同じく豚胆汁に，クロラムフェニコール末（200 γ/cc）を加えておいても，蛋白膜の融解除去は行われない。

4. 蛋白膜の融解除去がみられるときには，浸漬液は溷濁して，細菌の増殖を認める。高圧滅菌した豚胆汁を使用してもそうであるから，この細菌は虫卵に附着していたものと考えられる。この細菌を夫々の実験の場合に分離して調べてみると，その性状は第1表の通りで，腸内細菌に属するものである。

5. 豚蛔虫の虫体を水道水でよく洗い，ついで2万倍マーゾニン加滅菌食塩水で2回，滅菌食塩水で2回洗い，この虫体より無菌的操作のもとに取り出した虫卵を，滅菌豚胆汁に浸漬すると，蛋白膜は3週を経ても融解除去されない。その際浸漬液は溷濁せず，細菌の増殖も認められない。虫卵内容は仔虫を形成していた。

6. 以上の各実験から，蛋白膜除去には，浸漬液における細菌の増殖が必要因子ではないかと推定される。よつて，豚の小腸を切開し，腸内の蛔虫体表面及び腸内壁を白金耳で擦過し，これより分離培養を行つて得た菌，AS-10株及びAS-11株（その性状は第1表に示した通り，グラム陰性で腸内細菌に属するものである）を，実験5と同じ条件下に採取した虫卵と共に夫々滅菌豚胆汁に接種すると，AS-10株，AS-11株両者共，蛋白膜は48〜72時間で完全に融解除去される。対照として，この両者の加熱死菌（100°C 30分）2白金耳を夫々加えたものでは蛋白膜の融解除去は行われない。よつて，一定の細菌の増殖が必要な因子であることが判明した。

7. 実験6の場合に，豚胆汁の濃度を低下させ50%以下にすると，蛋白膜は4週を経ても除去されない。また，豚胆汁の代りに，ブイヨン又は蒸溜水を用いると，蛋白膜の融解除去は行われない。これによつて，一定濃度の豚胆汁も必要な因子であることが知られる。胆汁成分の一つであるデゾキシコール酸は，肺炎球菌の多糖体を溶かすのに使用されているが，豚胆汁の代りにデゾキシコール酸ソーダを用いても，蛋白膜の融解除去は行われない。

以上の実験結果を一括したのが第2表である。

考按

上記の実験結果から，一般的にみて豚蛔虫卵蛋白膜の融解除去には，豚胆汁と豚の腸内細菌の増殖が必要である，との結論をこゝで直ちに引き出すことは勿論出来ない。

自然の状態においては，何らか別の機序も行われているのかもしれない。たゞ私の実験範囲からみれば，豚胆汁と腸内細菌の増殖が必要な条件であつたわけである。しかしこれが限定された実験条件範囲内の結論であると

KUNIKO NAKAYAMA: Effects of hog bile and enteric bacteria on the protein coat of *Ascaris suilla* ova. (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

第1表 実験に使用せる細菌の性状

株名	形態	グラム染色	運動性	クリグラー培地	硫化水素	シモン培地	M. R.	V. P.	インドール	グルコース	ラクトース	サッカロース	マルトース	マンニット	アドニット	トレハローズ	ズルチット	サリシン	イノシット	ソルビット	キシロース	ラムノース	アラビノース
AS- 1	桿菌	−	+	−/AG	+	+	+	−	−	$\oplus^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$-^{10}$
AS- 2	〃	−	−	A/AG	−	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{2}$	$+^{2}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS- 3	〃	−	+	−/AG	+	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{3}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS- 4	〃	−	−	A/AG	−	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{2}$	$+^{2}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS- 5	〃	−	−	A/AG	−	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS- 6	〃	−	−	A/AG	−	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS- 7	〃	−	+	A/AG	+	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$
AS- 8	〃	−	−	A/AG	−	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS- 9	〃	−	+	−/AG	−	+	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS-10	〃	−	+	A/AG	−	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$
AS-11	〃	−	+	A/AG	−	−	+	−	+	$\oplus^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$-^{10}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$	$+^{1}$

第2表 各種条件下における豚蛔虫卵蛋白膜除去実験

虫卵取り出し操作	浸漬液の組成		分離菌添加の有無	保存温度	菌の増殖	観察時間 24時間*	72時間	96時間	1週	2週	3週	4週
無菌的	高圧滅菌豚胆汁濃度	100 %	+	0°	−	100**	100	100	100	100	100	100
		100 %	+	30°	+	0	0	0	0	0	0	0
		75 %	+	30°	+	100	0	0	0	0	0	0
		50 %	+	30°	+	100	100	100	100	100	6	0
		25 %	+	30°	+	100	100	100	100	100	100	100
		5 %	+	30°	+	100	100	100	100	100	100	100
		100 %	−	30°	−	100	100	100	100	100	100	100
	滅菌蒸溜水		+	30°	+	100	100	100	100	100	100	100
	ブイヨン培地		+	30°	+	100	100	100	100	100	—	—
非無菌的	高圧滅菌豚胆汁 (100 %)		−	30°	+	19	0	0	0	0	0	0
	テゾキシコール酸ソーダ (0.5%)		−	30°	+	100	100	100	100	—	—	—
	豚胆汁+クロマイ (200 γ/cc)		−	30°	−	100	100	100	100	100	—	—
	豚胆汁+ペニシリン		−	30°	+	80	0	0	0	—	—	—

* 観察時間は浸漬液に虫卵を浸漬してからの時間を表す

** 数字は蛋白膜附着虫卵数を百分率で表す。その他には蛋白膜除去虫卵及び不明のものを含む

しても，自然の状態において行われる機序を覗つてみる一つの資料としての意味はあるのではなかろうか。

また私の実験範囲内に問題を限定してみても胆汁がいかなる影響を及ぼしているのか——胆汁全体としての膠質化学的な性質によるものか，何かその特殊成分が役割を演じているものか——は，追求されていない。

豚腸内細菌の増殖がもう一つの必要条件であるが，これにしても，細菌の酵素によるものか，細菌の何か代謝物質によるものか，またそれ以外の影響によるものかは未解決のまゝにされている。これ等のことが追求されるためには，一方においては虫卵の蛋白膜自身の性質も，もつと明らかにされる必要があろう。これ等の点に関して，更に突きこんだ研究は他日になされるべきものとして，私の実験はごく一応の現象論的の段階で打ち切つたわけである。

要 約

一定条件下の実験において，豚蛔虫卵蛋白膜の融解除去には，豚胆汁及び豚腸内細菌の増殖が必要である。

稿を終るに臨み，御指導，御校閲を賜わつた部長小宮義孝博士に心からの謝意を表します．なお，種々御協力頂いた予研寄生虫部の諸兄姉に感謝いたします．

文 献

1) Oswald, T. Avery, Colin M. Macleod and Maclyn Mccarty (1944): Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic-acid fraction isolated from pneumococcus type III, J. Exp. Med., 79(2), 137-158. —2) 江渡哲哉 (1932)：蛔虫体腔液の細菌学検索並びに蛔虫腸内細菌 主として大腸菌の生物学的性状について，慶応医学，12(10)，113-123. —3) 石井圭一(1954)：豚蛔虫卵の蛋白膜形成について，寄生虫学雑誌，3 (1)，120. —4) 中川雅美(1931)：胆汁の線虫卵発育に及ぼす影響，慶応医学，11(1)，1-44. —5) 佐々木流道(1928)：蛔虫感染の要約に就て (6. 胆汁の蛔虫感染に及ぼす影響)，日本微生物病理学雑誌，22(12)，2671-2714. —6) 吉田貞雄・高野了三(1923)：蛔虫卵蛋白膜について，大阪医学会雑誌，22(2)，168-172.

Summary

It has been found that both the hog bile and the enteric bacterial proliferation are experimentally necessary for the removal of protein coat of *Ascaris suilla* ova.

放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究

(2) X線の蛔虫卵発育に及ぼす影響について

門 多 魁

大阪大学微生物病研究所寄生虫原虫学部 (部長 森下薫教授)

(昭和31年12月25日受領)

緒 言

著者は先に生体外で豚蛔虫にX線を照射し，その生存力並びに産卵能を観察すると共にその子宮内卵発育に及ぼす影響について報告した。そのうち後者に関しては，既往の Holthusen (1919〜1932)，Seide (1925)，Zuppinger (1928) 等が馬蛔虫卵にX線を照射して得た成績と必ずしも一致せず，豚蛔虫に1.1万rの如き大量照射後の子宮内卵に於てもその発育能は何ら影響を受けない結果を示した。

従来豚蛔虫卵についてはX線照射の発育能に及ぼす影響を観察した報告は殆ど見るべきものがない。著者はこの基礎的事項を究明し併せて馬蛔虫卵に於ける知見と比較検討するため豚蛔虫卵にX線を直接照射する方法により以下の系統的実験を試みた。

実験材料及び方法

虫卵材料：生鮮豚蛔虫の子宮末端 (約1cm) より採取した受精卵を毎回4〜6隻分宛充分混和し，予め4%アンチフォルミン液中に約30分浸し蛋白膜除去後2.5%フォルマリン液を加えて虫卵液を調製する。試験区分は子宮より摘出直後，培養3，5，8，10，15日目の6区とし，各区の虫卵液はプラスチック製小皿中にとり，夫々その上澄液を良く除去し均質な懸濁液としたものをX線照射材料とし対照に非照射材料をとつた。

照射の方法：大阪大学微生物病研究所附属病院所有の近接照射式 (島津，清和号) により，25,200r，11,300r，7,910r，4,520r，3,390r，2,260r の各線量を選び一時照射を試みた。照射条件は管電圧 40 KVP (25,200r 照射時は 45 KVP)，無濾過板，管電流 2mA で毎分X線量は 2,260r (45 KVP 時は 25,20r) である。

照射後の虫卵培養：照射後の虫卵は小型シャーレにとり，2.5%フォルマリン液を加えた後 28°〜30°C 孵卵器内にて培養し，その観察は培養開始後3，6，9，12，15，30日目の6回に行つた。

発育能の障害及び抑制の判定：虫卵の発育過程は前報に記したと同様，虫卵の発育段階を単細胞期 (M)，早期桑実期 (E)，後期桑実期 (L)，蝌蚪期 (T)，運動仔虫期 (ME) の5期に分ち之に変性卵 (D) を加え夫々の百分率及び発育指数 (I. V. D.) を求めて観察したが，障害の判定は培養30日目に於ける仔虫形成阻止率 (仔虫形成を認めぬ箇数の百分率) を対照 (非照射例) と比較してその差の有意性 (危険率5%) を検定することによつた。但し培養15日目 (仔虫包蔵卵) の場合は観察所見のみで決定することは危険性もあるが一応細胞の変性像の百分率によるものとする。尚虫卵の変性像の判定は種々あるが卵細胞の顆粒形成，透明化，空胞形成，萎縮，崩壊，脂肪顆粒の融解等を規準とした。

又発育過程に於ける抑制の判定として，全期に亘つては I. V. D. を対照と比較することによつたが各観察日についての場合，一つの方法として，培養3日目に於ては2細胞期虫卵，培養6日目に於ては後期桑実期虫卵，培養9 (8) 日目に於ては蝌蚪期虫卵及び仔虫，培養12，15日目に於ては仔虫の各形成率を夫々の対照 (非照射例) と比較してその差の有意性 (危険率5%) を検定することによつた。上述の虫卵形成率を著者は以下発育指標虫卵形成率と呼称する。かかる方法を選んだのは各観察日についての場合，I. V. D. を対照と比較するのみでは対照との差が明確に知り難いが発育指標虫卵形成率の設定により，その判定が容易に可能となり併も信頼度が高いと考えたからである。

KAI KADOTA: Studies on the influence of radiations upon the behaviour of *Ascaris lumbricoides*. II. Report. Influence of X-ray upon the development of their eggs. (Department of Parasitology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka)

マウス感染試験：照射後の虫卵を培養し仔虫包蔵卵に発育した場合，その動物感染能の状態を知るため試みた。即ち25,200 r，11,300 r 照射後の虫卵につき培養40〜50日目のもの約5,000箇をマウスに試食させ7〜8日目に剖検し，その肺内に於ける活動性幼虫の有無を検し対照(非照射例)と比較した。

実験成績

1. 照射後虫卵の発育能に及ぼす影響

各発育時期別に成績を纏めると第1〜6表の様になる。虫卵は夫々100箇について発育状態を観察したが，培養12日目の成績は省略した。以下各項の発育障害及び抑制の判定は実験方法に記した規準に従つたが，障害の％は仔虫形成阻止率について対照(非照射例)との差を表わし検定により有意を示した場合とする。

1) 摘出直後虫卵(単細胞期)：第1表に示す様に，25,200 r，11,300 r の場合，夫々14％，11％の障害を認めたが7,910 r 以下では示さなかつた。併し乍ら発育の抑制は7,910 r の場合，発育過程全期に亘る I. V. D. が対照と比較して減少することにより明らかに認められ，又4,520 r. 2,260 r の場合に於ても照射後5日(培養6日目)迄は発育指標虫卵形成率の検定により認められた。

2) 培養3日目虫卵(単細胞期及び2細胞期)：第2表に示す様に25,000 r，11,300 r，4,520 r，3,390 r の場合，夫々70％，78％，18％，18％の障害を認めた。又2,260 r の場合，障害は示さなかつたが抑制は照射後6日(培養9日目)迄検定により認められた。

3) 培養5日目虫卵(早期桑実期)：第3表に示す様に上記線量の場合，夫々91％，95％，46％，20％の障害を認めた，又2,260 r の場合，障害は示さなかつたが抑制は照射後4日(培養9日目)迄検定により認められた。

4) 培養8日目虫卵(後期桑実期及び蝌蚪期)：第4表に示す様に上記線量の場合，夫々61％，37％，21％，18％の障害を認めた。併し乍ら2,260 r の場合は障害及び発育過程全期に亘り抑制を認めなかつた。

5) 培養10日目虫卵(蝌蚪期及び仔虫期)：第5表に示す様に25,200 r，11,300 r，7,910 r の場合，夫々27％，31％，23％の障害を認めたが，4,520 r では障害及び発育過程全期に亘り抑制を認めなかつた。

6) 培養15日目虫卵(仔虫卵)：第6表に示す様に25,200 r，11,300 r の場合，夫々12％，26％の障害を

第1表 摘出直後虫卵照射時

照射線量		25,200 r					11,300 r					7,910 r					4,520 r					2,260 r				
発育状態＼培養日数		3日	6日	8日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日
M	X	78	1				82	1				82	1				28					42				
	C	49					51					51					12					26				
E	X	22	99	9	1		18	96	3			18	98	2	1		72	87	7			58	82	6		
	C	51	94	4			49	81				49	99				88	76	4			74	70	6		
L	X			87	4	2		3	46				1	62	1			13	78				18	89		
	C		6	83				19	20				1	32				24	76				30	88		
T	X			4					49					35					15					5		
	C			13					79					68					20					6		
ME	X				84	86				91	85				88	89				98	98				98	98
	C				100	100			1	98	96				98	97				99	98				99	98
D	X				11	12			2	9	15			1	10	11				2	2				2	2
	C									2	4				2	3				1	2				1	2
I.V.D.	X	22	99	195	345	348	18	102	242	364	340	18	100	231	355	356	72	113	208	392	392	58	118	198	392	392
	C	51	106	209	400	400	49	119	281	392	384	49	100	268	392	388	88	124	216	396	392	74	130	200	396	392

註：第1〜6表中のXはX線照射の場合，Cは対照(非照射)の場合を示すものとす

第2表 培養 3 日目虫卵照射時

照射線量		25,200 r				11,300 r				4,520 r				3,390 r				2,260 r			
発育状態＼培養日数		6日	8日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日
M	X					28	14	16	17												
	C																				
E	X	100	62	23	12	72	56	29	24	93	2			100		1		98			
	C	89	5			91				91				98	1			90	1		
L	X		36	19	9		27	5	1	7	49	1			22			2	45	1	
	C	11	78			9	30			9	30			2	22			10	27	1	
T	X		12				3				44	1			77				55	3	
	C		17				65				65				77				72	4	
ME	X			22	30			20	18		5	80	78			81	81			94	94
	C			100	100		5	99	96		5	99	96			100	99			95	95
D	X			36	49			30	30			18	22		1	18	19			2	6
	C							1	4			1	4				1				5
I.V.D.	X	100	170	149	150	72	119	119	98	107	252	325	312	100	275	325	324	102	255	387	376
	C	111	212	400	400	109	275	396	384	109	275	396	884	102	276	400	396	110	271	394	380

第3表 培養 5 日目虫卵照射時

照射線量		25,200 r				11,300 r				4,520 r				3,390 r				2,260 r			
発育状態＼培養日数		6日	8日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日
M	X	1																			
	C																				
E	X	95	17	4	2	100	76	36	26	99	2			91				95			
	C	69	5	1		88				88				91				88			
L	X	4	81	3	4		23			1	61			9	31			5	42		
	C	31	66	1	1	12	35			12	39			9	10			12	20		
T	X		2				1	2			37	1			68				44		
	C		29				62				62				76				70		
ME	X			9	8			2	2			63	51		1	84	79		14	96	94
	C			98			3	99	97		3	99	97		14	99	99		10	98	97
D	X			84	86			60	72			36	49			16	21			4	6
	C				99			1	3			1	3			1	1			2	3
I.V.D.	X	103	185	46	42	100	125	50	34	101	235	255	204	109	270	336	316	105	272	384	376
	C	131	224	395	398	112	268	396	388	112	268	396	388	109	304	396	396	112	290	382	388

第4表 培養8日目虫卵照射時

照射線量		25,200 r			11,300 r			4,520 r			3,390 r			2,260 r		
発育状態＼培養日数		10日	15日	30日	9日	15日	30日	9日	15日	30日	9日	15日	30日	9日	15日	30日
M	X															
	C															
E	X		1	1	4	1	3	4	2	2	1			1	1	
	C					1			1						1	
L	X	28	2	1	25	2		21	1	1	66			25	1	1
	C	5			12	1	1	12	1	1	33			23	1	1
T	X	53			46	1		46	1		32			43		
	C	52	1		46	1		46	1		66			51		
ME	X	16	40	39	22	65	59	28	82	75		74	72	31	95	94
	C	43	99	100	41	94	96	41	94	96		97	94	26	96	96
D	X	3	57	59	3	31	38	1	14	22	1	26	28		3	5
	C				1	3	3	1	3	3	1	3	6		2	3
I.V.D.	X	279	165	159	280	268	239	296	335	304	229	296	288	304	383	378
	C	338	399	400	326	382	384	326	382	384	264	388	376	303	387	386

第5表 培養10日目虫卵照射時

照射線量		25,200 r		11,300 r		7,910 r		4,520 r	
発育状態＼培養日数		15日	30日	15日	30日	15日	30日	15日	30日
M	X								
	C								
E	X								
	C								
L	X			4	2	1		1	
	C								
T	X			3	3	8	3		
	C								
ME	X	100	73	85	68	83	75	98	97
	C	100	100	99	99	98	98	99	98
D	X		27	8	27	8	22	1	3
	C			1	1	2	2	1	2
I.V.D.	X	400	292	357	285	358	309	394	388
	C	400	400	396	396	392	392	396	392

第6表 培養15日目虫卵照射時

照射線量		25,200r	11,300r	7,910 r	4,520 r
発育状態＼培養日数		30日	30日	30日	30日
ME	X	86	71	88	96
	C	98	97	94	96
D	X	14	29	12	4
	C	2	3	6	4

第7表 マウスのX線照射虫卵試食による感染状況

	感染実数	非感染実数	計
X線照射虫卵試食時	11	3	14
対照(非照射虫卵試食時)	7	2	9

註：マウスの感染判定は肺内に於ける活動性幼虫の検出有無による

認めたが7,910 r 以下では認めなかつた。

又発育過程に於ける I. V. D. は虫卵の障害を来す線量の場合，何れも照射後最初の観察 (1～3日後) 結果と対照と比較して漸減の傾向を示した。

2. 照射後虫卵のマウス感染能に及ぼす影響

第7表に示す様に 25,200 r, 11,300 r 照射後の虫卵についてマウス感染試験を試みた結果，対照(非照射例)との間に有意(危険率5%)の差を認めなかつた。

考 按

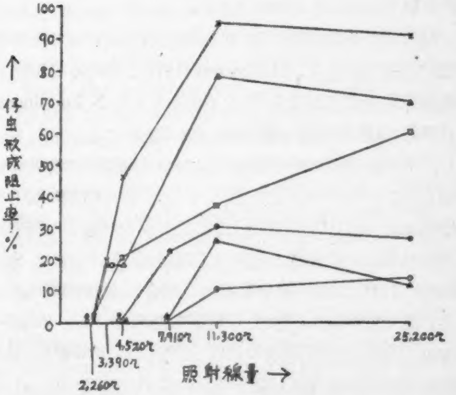
蛔虫卵のX線感受性が外的条件によつて或る程度影響を受けることは Holthusen, Zuppinger 等の馬蛔虫卵についての基礎実験がある。即ち照射時に少量の水で湿潤にすると乾燥時に比し感受性が高まり，温度上昇によつても稍ゝ増大するが嫌気性に保つた虫卵は新鮮虫卵に比べて相当に低下するという。本実験はかかる点を考慮し，外的条件を一定に保つ様に努めて試みた。又X線感受性の動揺について Zuppinger (1928) は新鮮な馬蛔虫卵をとり，同一の外的条件及び線量を選んでも蛔虫の個体差による影響は頗る大きく 600 r 照射時は最高 59%，最低 10% の障害を示し，その平均は約 20% であつたと述べている。本実験に於て虫卵を常に蛔虫 4～6 隻より採取混和して用いたのは虫体の個体差による動揺をなるべく少くするためであり又各線量照射は夫々2回宛試み，虫卵の発育能に及ぼす影響はその平均値で表わすことにした。

虫卵の発育能の障害を見るに豚蛔虫については，前報に報告した如く 1.1 万 r 虫体照射後その虫卵に何ら障害を認めなかつたが，本回蛔虫卵直接照射の方法によりその障害度を追求した結果に於ても子宮より摘出直後の単細胞期虫卵の場合，7,910 r 以下の線量では殆ど障害を示さなかつた。即ち 25,200 r，11,300 r では夫々 14%，11% の障害を認めたが 7,910 r では対照と比較してその差は有意を示さず，只 I. V. D. は発育過程の全期に亘り対照と比較して減少を認めたのは明らかに抑制を受けたと見なされ，従つてこの場合は障害出現に極く接近した線量と思われる。

尚照射条件として，前報の虫体照射時は 165 KVP，6 mA であるのに対し本回の虫卵照射時は 40 KVP，4 mA であるため両者の線質差に基因する影響の差は当然考えられるところである。併し乍ら Holthusen (1932) が馬蛔虫卵に諸種放射線を照射しその影響を比較検討した結果に於て，150～160 KVP，4 mA による硬X線及び 8 KVP，8 mA による軟X線の略々同線量は略々同等の障害を来し両者の間に著しい差を認めなかつた事実に鑑み，この範囲の線質差による影響は比較的僅少なものと推測して差支えない様に思われる。

又障害出現の限界線量として Zuppinger (1928) は馬蛔虫卵の場合 600 r をあげているが，著者の前報に記した様に豚蛔虫卵については 1.1 万 r 虫体照射後その虫卵に何ら障害を受けなかつた結果との差異を著しく又本回得た成績についても同様に顕著である。従つて 600 r の如き低線量で既に障害を認めた馬蛔虫卵との差異の基因は依然解明し難いが，上記の報告者の記述にも新鮮虫卵に於て嫌気性に保ち 2,000 r (100 KVP, 4 mA) 適用で始めて卵細胞の障害出現を認め，この場合の虫体は特にX線抵抗性があつたものと推定している点，蛔虫の個体差，豚蛔虫と馬蛔虫の異種類差等は軽視し得ないものと考えられる。

本実験に於ける照射線量と仔虫形成阻止率の関係を図示すれば第1図の様になる。之によれば一般に線量の増加に伴い仔虫形成阻止率は上昇する傾向にある。併し乍ら 11,300 r 及び 25,200 r では摘出直後虫卵，培養8日目虫卵の如く稍ゝ増大したものもあるが，培養3，5，10，15日目虫卵では稍ゝ減少を示しその差異を明確に認め難かつた。又虫卵の障害度を発育時期別に見ると，培養5日目虫卵(早期桑実期)が最大を示し，その前後の3日目虫卵(単細胞期及び2細胞期)，8日目虫卵(後期桑実期及び蝌蚪期)が之につぎ，以下10日目虫卵(蝌蚪期及び仔虫期)，15日目虫卵(仔虫期)及び摘出直後虫卵



第1図 X線照射線量と仔虫形成阻止率
(培養30日目に於ける)

○：摘出直後虫卵
△：培養3日目虫卵
×：同 5日目 同
□：同 8日目 同
●：同 10日目 同
▲：同 15日目 同

(単細胞期)の順で減少を示した。尚後二者については,25,200 r の場合略ゝ同値を示したが,11,300 r では夫々26 %,11 %を示したことより,その感受性は前者の方が稍々勝るかの様に見えた。併し仔虫包蔵卵の障害判定に関しては,現在未だ正確な把握は至難と見なされるので,単細胞期虫卵との比較に於ても断定し難いものと考えられる。

Zuppinger (1928)は嫌気性に保つた馬蛔虫卵について,2,000 r を照射し発育時期による影響の差を観察した。この場合嫌気性の条件は,望む時期の発育を一時的に静止状態におき細胞分裂の攪拌的影響を遮断し得るため,感受性の差異を正確に決定する上に最良の方法と述べている。その結果,2細胞期は単細胞期に比べ感受性が約3倍低く現われその後は減少するが,胞胚完成期より徐々に上昇を認め嚢胚形成の開始期に急激に増大し単細胞期の2倍以上の最高値に達する。併し以後は下降し仔虫期は非常に低い感受性しか示さぬとした。本回の成績中培養3日目は単細胞及び2細胞の混在期に当り純然たる2細胞期の態度は不明であるが,培養3日目に於ても単細胞期に比べ既に上昇を示したのは上記成績と稍ゝ相異している。併し乍ら培養5日目は嚢胚形成の開始期と見なし得るので,この時期に最高値に達する事実は両者何れも一致し,更にその後仔虫期に至る間漸次減少する傾向も軌を一にしたものである。

蛔虫卵の発育時期によるX線感受性についてその歴史的推移を辿ると,Holthusen (1919),Seide (1925)は馬蛔虫卵の発育が進む程低下するとしたが Zuppinger (1928) は嚢胚形成の開始期に特に増大することを確認し,かかる事実が始め看過されたのは時間的に非常に限定されていたためと見なしている。この時期に関して Hertwig (1911)は両棲類幼虫に放射線を照射した研究に於て発育上の危険期と記述し又蛔虫卵については Schleip (1923)が紫外線を照射した場合,他の時期に比べその感受性が特に増大する現象を認めている。Zuppinger (1928)は上記現象の基因を細胞がこの時期に当り発生学的に内外胚に分化するため強力な改造が行われる機序に求めているが,現今に於ても細胞分裂と物質代謝の最盛期と推測されている。

以上は主に発育能の障害について検討したが,次に抑制に関して若干の考察を述べてみる。虫卵の障害を来す線量の場合,発育過程に於ける I. V. D. は何れも照射後最初の観察(1〜3日後)結果と対照と比較して漸減の傾向を示すことより,X線の及ぼす障害乃至抑制作用は比較的緩除に出現するものと言えよう。又著者の所謂発育指標虫卵形成率を対照と比較して判定した結果では障害を来さぬ線量に於ても,照射後一定期間両者の間に有意の差を認めた場合にはその期間中発育の抑制乃至遅延を来したと解して差支えないものと思われる。即ち摘出直後虫卵の場合,4,520 r,2,260 r では夫々照射後5日,培養3日目虫卵の場合,2,260 r では照射後6日,培養5日目虫卵の場合,2,260 r では照射後4日の間はかかる現象が認められた。従つて虫卵の発育能に及ぼす影響としては先づ障害を目標にすることは当然であるが,障害出現を認めぬ線量に於ては上述の如く照射後数日間一時的に発育の抑制を受けたと見なされる現象を一応注目する必要があると考えられる。

又25,200 r 及び11,300 r 照射後の虫卵についてマウス感染試験を試みた結果,第7表に示す如くその感染例は対照(非照射例)との間に有意の差を示さなかつたことより,虫卵の動物感染能は少くとも悉くが著しい障害を受けなかつたものと推定される。

結　論

1. 豚蛔虫卵の各発育時期別にX線を25,200r〜2,260r の線量を選び照射後培養を試み,その発育に及ぼす影響を観察した。

2. 虫卵の発育能の障害を仔虫形成阻止率より見ると,子宮より摘出直後の単細胞期では25,200 r,11,300 r の場合,夫々14 %,11 %を示し著しく低いが,その後は急激に増加し単細胞期及び2細胞期(培養3日目)では前記線量及び4,520 r,3,390 r の場合,夫々70 %,78 %,18 %,18 %,早期桑実期(培養5日目)では夫々91 %,95 %,46 %,20 %に達する。併し以後は漸次減少し後期桑実期及び蝌蚪期(培養8日目)では夫々61 %,37 %,21 %,18 %,蝌蚪期及び仔虫期(培養10日目)では25,200 r,11,300 r,7,910 r の場合,夫々27 %,31 %,23 %,仔虫卵(培養15日目)では25,200 r,11,300r の場合夫々12 %,26 %を示した。

3. 虫卵の障害を来さぬ線量としては,子宮より摘出直後虫卵及び培養15日目虫卵では7,910 r 以下,培養3,5,8日目虫卵では2,260 r,培養10日目虫卵では4,520r であつたが,この場合に於ても摘出直後虫卵及び培養3,5日目虫卵では発育過程の全期に亘り或は一定期間(照射後数日)発育の抑制現象が認められた。

4. 25,200 r 及び11,300 r 照射後の虫卵についてマウス感染試験を試みた結果,対照(非照射例)との間に差

異を認めなかつたことより，虫卵の動物感染能は少くとも悉くが著しい障害を受けなかつたものと推測される。

終りに臨み，終始御指導と御校閲を賜つた森下薫教授に深謝すると共に，X線照射の御便宜を与えて戴いた山口寿教授に謹謝し併せて絶えず照射の労をとられた遠藤俊夫氏並びに利根敏治氏に厚く感謝の意を表する。

本論文の要旨は昭和31年4月，日本寄生虫学会第25回総会に於て発表した。

文献

1) Holthusen, H. (1919): Über die biologische Wirksamkeit von Röntgenstrahlen versceiedener Wellenlänge., Fortschr. d. Röntgenstr., 27, 213-244. —2) Holthusen, H. (1924): Biologische Dosierung der Röntgenstrahlen mit Ascariseiern., Klin. Wochenschr., 3Jg. (5), 185-186. —3) Holthusen H. (1924): Die Wirkung der Röntgenstrahlen in biologischer Hinsicht., Strahlen Ther., 18, 241-262. —4) Holthusen, H. (1927): Der Grundvorgang der biologischen Strahlenwirkung., Ebenda, 25, 157-163. —5) Brown, R. und Holthusen, H. (1929): Einfluss der Quantengrösze auf die biologische Wirkung verschiedener Röntgenstrahlenqualitäten (I)., Ebenda, 34, 707-734. —6) Holthusen, H. und Zweifel, C. (1932): Einfluss der Quantengrösze auf die biologische Wirkung verschiedener Strahlenqualitäten (2)., Ebenda, 43, 249-272. —7) Seide, J. (1925): Zur kenntnis der biologischer Strahlenwirkung, Untersuchungen am Ascaris-Ei mit Ultravioletten, Röntgen und Radiumstrahlen., Zeitschr. für wissenschaft. Zoologie, 124, 253-304. —8) Zuppinger, A. (1928): Radiobiologische Untersuchungen am Ascariseiern., Strahlen Ther., 28, 639-758. —9) Hertwig, O. (1911): Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Ein Beitrag zur experimentallen Zeugungen und Vererbungslehre., Arch. f. micro. Ana., 77, 1-164. —10) Hertwig, P. (1911): Durch Radiumbestrahlung hervorgerufene Veränderungen in den Kernteilungsfiguren der Eier von Ascaris megalocephala, Ebenda, 77, 301-311. —11) Schleip, W. (1923): Die Wirkung des ultravioletten Lichtes auf die morphologischen Bestandteile des Ascariseies., Arch. f. Zellforsch., 17, 289-367. —12) 門多魁(1956)：放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究(1) X線の蛔虫生存力及び産卵能並びにその子宮内卵発育に及ぼす影響について，寄生虫学雑誌，5(3)，376-383.

Summary

The author made an observation on the influence of X-ray radiation of several doses between 25,200r and 2,200r upon the developmental ability of ascarid eggs in various stages, by means of culture method after the procedure.

As to its inhibitory action to embryonation of the eggs, in fresh eggs just obtained from uteri, the inhibitory rate is distinctly low even by radiation of strong doses such as 25,200r or 11,300r, being 14% and 11% respectively. However, it increases suddenly in those at 3rd day of culture, although they are still in mono- or 2 cells stage, being 70% and 78% by the radiation of same doses as above respectively, while it is only 18% by the radiation of each of 4,520r or 3,390r, and in those at 5th day of culture, which are in early morula stage, the influence becomes most prominent, being 91%, 95%, 46%, and 20% by the radiation of one of doses mentioned above respectively. In those after this stage, the rate again decreases gradually, so that in those at 8th day of culture, which are in late morula or tadpole stage, it is 61%, 37%, 21%, and 18% by respective doses of radiation, in those at 10th day of culture, which are in tadpole or embryonated stage, 27%, 31%, and 23% by 3 higher doses of radiation, and in those at 15th day of culture, all embryonated, 12% and 26% even by 2 higher doses respectively.

Thus, the influence of X ray radiation varies according to the developmental stage of the eggs as well as to the dosis of the former applied. It was detected, however, that even by subdosis of radiation there is seen a depressive phenomenon in the development of the eggs, especially of those freshly obtained from the uteri and at 3rd or 5th day of culture, during thier entire or a definite period of development.

Finally, the eggs exposed to 25,200r and 11,300 r radiation have shown no significant difference in infecting ability to mice as compared with non-irradicated eggs, so that it can be asumed that there occurred no injurious influence of the radiation upon the infectivity of the embryos formed in the treated eggs.

浅見敬三所蔵

放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究

(3) Cobalt-60 の蛔虫卵発育に及ぼす影響について

(その1)

門 多 魁

大阪大学微生物病研究所寄生虫原虫学部(部長 森下薫教授)

(昭和31年12月25日受領)

特 別 掲 載

緒 言

人工放射性元素 Radioisotope の研究は 1946 年原子反応炉によりその大量生産が可能になると共に,その応用範囲は著るしく拡大し,医学,生物学分野に於ても生体代謝機構の解明,化学分析,悪性腫瘍の治療等その活用は広汎多岐に亘つている。そのうち Co-60 は γ 線源としてラジウムの代用となり併もそれに優る多くの性能を有するので,その研究並に実用化は就中活潑である。寄生虫対策として米国に於ては, Trichinosis の防遏のため食肉内の Trichina 幼虫の殺滅実験が Co-60 により試みられ既に大規模な実際計画が企てられつつあるのもその一つである。

Trichinosis は従来我国に於ては殆ど皆無と見なされるが,そのかわり浸淫度の高い蛔虫及び鉤虫症は研究上の対象としてその意義は頗る大きい。放射線のうちX線による蛔虫卵に及ぼす障害の研究は前報に記述した様に1920年頃より見られており,又ラジウムの γ 線についても既に Hertwig (1911),沢田・大木(1924), Seide (1925), Zuppinger (1928), Holthusen (1933)等の報告がある。併し乍ら Co-60 については最近浅見・小林・斎藤(1955)及び斎藤(1956)により蛔虫卵殺滅に関する基礎的知見が報告された以外に見るべきものがない。著者は前報に於てX線の豚蛔虫卵発育に及ぼす影響を観察し,その結果従来諸家が馬蛔虫卵について記した所見と必ずしも一致しない成績を得たが,本回は Co-60 を照射し虫卵の発育に及ぼす影響を追求するため以下2,3の基礎的実験を試みた。

KAI KADOTA: Studies on the influence of radiations upon the behaviour of *Ascaris lumbricoides*. III. Report. Influence of Cobalt-60 upon the development of their eggs. (1), (Department of Parasitology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

実験材料及び方法

虫卵材料:生鮮豚蛔虫の子宮末端(約1 cm)より採取した受精卵を毎回4〜6隻分宛充分混和し, 予め4%アンチフォルミン液中に約30分浸し蛋白膜除去後2.5%フォルマリン液を加えて虫卵液を調製する。試験区分は摘出直後,培養3, 5, 8, 10, 15日目の6区とし,各区の虫卵液はプラスチック製小皿(24,000 r, 12,000 r 照射時は注射液用小アンプレ)中にとり,夫々その上澄液を良く除去し均質な懸濁液としたものを照射材料とし対照に非照射材料をとつた。

照射の方法:大阪大学微生物病研究所附属病院所有のものを用い, 24,000 r, 12,000 r, 4,800 r, 2,400 r, 1,200 r の各概算線量を選び一時照射を試みた。尚 Co-60 照射の距離及び時間は前二者の場合, 6 cm に於て夫々48分及び24分であり,後三者の場合, 30 cm に於て夫々6, 3, 1.5時間である。

照射後の虫卵培養:照射後の虫卵は小型シャーレにとり, 2.5%フォルマリン液を加えた後28°〜30°C 孵卵器内にて培養し,その観察は培養開始後3, 6, 9, 12, 15, 30日目の6回に行つた。

発育能の障害及び抑制の判定:前報に記したと同様,障害の判定は培養30日目に於ける仔虫形成阻止率を対照と比較してその差の有意性(危険率5%)を検定することによつた。但し培養15日目(仔虫包蔵卵)の場合は,細胞の変性像の百分率によるものとし変性像の判定は従前通りの規準に従つた。又虫卵の発育段階を単細胞期(M),早期桑実期(E),後期桑実期(L),蝌蚪期(T),

運動仔虫期 (ME) 及び変性卵 (D) に分ち夫々の百分率並に発育指数 (I. V. D.) を求めて観察したのも前報と同様である。

発育過程に於ける抑制の判定として，全期に亘つてはI. V. D. を対照と比較することによつたが各観察日については前報に記した如く，著者の所謂発育指標虫卵形成率を夫々の対照と比較してその差の有意性(危険率 5 %)を検定することによつた。

マウス感染試験：照射後の虫卵を培養し仔虫包蔵卵に発育した場合，その動物感染能の状態を知るため試みた。即ち 24,000 r，12,000 r 照射後の虫卵につき培養40〜50 日目のもの約 5,000 箇をマウスに試食させ 7〜8 日目に剖検し，その肺内に於ける活動性幼虫の有無を検し対照(非照射例)と比較した。

実験成績

1. 照射後虫卵の発育能に及ぼす影響

各発育時期別に成績を纏めると第 1〜6 表の様になる。虫卵は夫々 100 箇について発育状態を観察したが，培養12 日目の成績は省略した。以下各項の発育障害及び抑制の判定は実験方法に記した規準に従つたが，障害の%は仔虫形成阻止率について対照(非照射例)との差を表わし検定により有意の差を示した場合とする。

1) 摘出直後虫卵 (単細胞期)： 第 1 表に示す様に 24,000 r 以下何れの場合に於ても障害を示さなかつた。併し乍ら発育の抑制は 24,000 r，12,000 r，4,800 r の場合，照射後 5 日 (培養 6 日目) 迄は発育指標虫卵形成率の検定により認められた。

2) 培養 3 日目虫卵 (単細胞期及 2 細胞期)：第 2 表に示す様に 24,000 r の場合のみ 28 %の障害を認めた。発育の抑制は 12,000 r，4,800 r，2,400 r の場合，照射後 6 日 (培養 9 日目) 迄検定により認められた。

3) 培養 5 日目虫卵 (早期桑実期)：第 3 表に示す様に 24,000 r，12,000 r の場合，夫々 50 %，7 %の障害を認めた。又 4,800 r，2,400 r，1,200 r の場合，障害は示さなかつたが抑制は照射後 4 日 (培養 9 日目) 迄検定により認められた。

4) 培養 8 日目虫卵 (後期桑実期及び蝌蚪期)：第 4 表に示す様に 24,000 r の場合，43 %の障害を認めた。又 12,000 r，4,800 r，2,400 r の場合，障害は示さなかつ

第1表　摘出直後虫卵照射時

照射線量		24,000 r					12,000 r					4,800 r					2,400 r					1,200 r				
発育状態＼培養日数		3日	6日	9日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日	3日	6日	9日	15日	30日
M	γ	92					26					51					50					50				
	C	69					8					40					40					40				
E	γ	8	100				74	100	1	2		49	90				50	74				50	74			
	C	31	94				92	94	1	1		60	76				60	76				60	76			
L	γ			42					10				10	24				26	21	1			26	15		
	C		6	38				6	10				24	19				24	19				24	19		
T	γ			58					84					68					72					71		
	C			62					82					68					68					68		
ME	γ				100	98			3	97	94			8	99	98			7	99	98			14	100	98
	C				100	99			5	97	96			13	99	98			13	99	98			13	99	98
D	γ					2			2	1	6				1	2					2					2
	C					1			2	2	4				1	2				1	2				1	2
I.V.D.	γ	8	100	258	400	392	74	100	285	390	376	49	100	284	396	392	50	126	286	398	392	50	126	299	400	392
	C	31	106	262	400	396	92	106	287	389	384	60	124	294	396	392	60	124	294	396	392	60	124	294	396	392

註：1. 第 1〜6 表中の γ は Co-60 照射の場合，C は対照 (非照射) の場合を示すものとす

2. 照射線量は凡て概算線量を表わす

第2表 培養3日目虫卵照射時

照射線量		24,000 r				12,000 r				4,800 r				2,400 r				1,200 r			
発育状態＼培養日数		6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日
M	r																				
	C																				
E	r	100	5	2		100				81				80				84			
	C	94				94				75				75				75			
L	r		76	5			21			19	20			20	13			16	9		
	C	6	38			6	8			25	5			25	5			25	5		
T	r		10	1			78				80				87				88		
	C		62				89				85				85				85		
ME	r			64	71		1	99	95			93	93			98	97		3	98	98
	C			100	99		3	100	96		10	98	98		10	98	98		10	98	98
D	r		9	28	29			1	5			7	7			2	3			2	2
	C				1				4			2	2			2	2			2	2
I.V.D.	r	100	187	219	284	100	280	396	380	119	280	372	372	120	287	392	388	116	294	392	392
	C	106	262	400	396	106	295	400	384	125	305	392	392	125	305	392	392	125	305	392	392

第3表 培養5日目虫卵照射時

照射線量		24,000 r				12,000 r				4,800 r				2,400 r				1,200 r			
発育状態＼培養日数		6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日	6日	9日	15日	30日
M	r																				
	C																				
E	r	100				91				100				97				94			
	C	94				91				94				94				94			
L	r		68			9	20				51			3	34			6	32		
	C	6	38			9	10			6	19			6	19			6	19		
T	r		32				68				49				65				68		
	C		62				76				81				81				81		
ME	r			55	49		11	95	92			96	96		1	99	99			100	99
	C			100	99		14	100	99			99	99			99	99			99	99
D	r			45	51		1	5	8			4	4			1	1				1
	C				1				1			1	1			1	1			1	1
I:V.D.	r	100	232	220	196	109	288	380	368	100	249	384	384	103	267	396	396	106	268	400	396
	C	106	262	400	396	109	304	400	396	106	281	396	396	106	281	396	396	106	281	396	396

第4表　培養 8 日目虫卵照射時

照射線量		24,000 r			12,000 r			4,800 r			2,400 r			1,200 r		
発育状態＼培養日数		9 日	15 日	30 日	9 日	15 日	30 日	9 日	15 日	30 日	9 日	15 日	30 日	9 日	15 日	30 日
M	γ															
	C															
E	γ	4				1										
	C	2						1			1			1		
L	γ	54			71			21			15			12		
	C	36			31			11			11			11		
T	γ	38			29			77			84	2		76	1	
	C	57			69			63			63			63		
ME	γ	4	57	53		97	96	1	97	96	1	96	96	12	96	96
	C	5	100	96		99	99	25	96	96	25	96	96	25	96	96
D	γ		43	47		2	4		3	4		2	4		3	4
	C			4		1	1		4	4		4	4		4	4
I.V.D.	γ	242	228	212	229	389	384	277	388	384	286	390	384	300	387	384
	C	265	400	384	269	396	396	312	384	384	312	384	384	312	384	384

第5表　培養 10 日目虫卵照射時

照射線量		24,000 r		12,000 r		4,800 r		2,400 r		1,200 r	
発育状態＼培養日数		15日	30日	15日	30日	15日	30日	15日	30日	15日	30日
M	γ										
	C										
E	γ										
	C										
L	γ			1							
	C										
T	γ										
	C										
ME	γ	96	83	99	98	98	98	99	98	98	98
	C	98	98	100	99	100	100	100	100	100	100
D	γ	4	17		2	2	2	1	2	2	2
	C	2	2		1						
I.V.D.	γ	384	332	398	392	392	392	396	392	392	392
	C	392	392	400	396	400	400	400	400	400	400

第6表　培養15日目虫卵照射時

照射線量		24,000 r	12,000 r	4,800r	2,400r	1.200r
培養日数 / 発育状態		30 日	30 日	30日	30日	30日
ME	γ	90	93	97	97	97
	C	98	94	99	99	99
D	γ	10	7	3	3	3
	C	2	6	1	1	1

第7表　マウスの Co-60 照射虫卵試食による感染状況

	感染実数	非感染実数	計
Co-60 照射虫卵試食時	10	2	12
対照（非照射虫卵試食時）	7	2	9

註：マウスの感染判定は肺内に於ける活動性幼虫の検出有無による

たが抑制は照射後1日（培養9日目）迄検定により認められた。

5）培養10日目虫卵（蝌蚪期及び仔虫期）：第5表に示す様に 24,000 r の場合，15 %の障害を認めた。併し 12,000 r 以下では障害及び発育過程全期に亘り抑制を認めなかつた。

6）培養15日目虫卵（仔虫卵）：第6表に示す様に 24,000 r の場合，8 %の障害を示した。併し 12,000 r 以下では障害を認めなかつた。

又発育過程に於ける I. V. D. は虫卵の障害を来す線量の場合，殆ど凡て照射後最初の観察（1〜3日後）結果と対照と比較して漸減の傾向を示した。

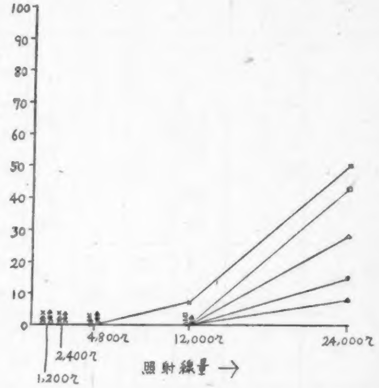
2. 照射後虫卵のマウス感染能に及ぼす影響

第7表に示す様に 24,000 r, 12,000 r 照射後の虫卵についてマウス感染試験を試みた結果，対照（非照射例）との間に有意（危険率5 %）の差を認めなかつた。

考　按

本実験に於ては常に材料を線源に対して一定距離，垂直に設置したが，両者の距離は 30 cm（4,800 r 以下の場合），6 cm（24,000 r 及び 12,000 r の場合）の2種によつた。材料と線源の距離を極めて接近させることは照射される線量が照射面上不均一となり，概算線量の精度が低下するのでなるべく避けるべきであり，従つて 6 cm の距離は 30 cm に比べて稍ゝ精度は劣ると考えられるが実験上の制約もあり採択した。尚浅見等（1955）の報告に於ても最短距離 5 cm をとつてあり，成績の検討に大なる支障は来さぬ範囲と思われる。

Co-60 の γ 線照射線量と仔虫形成阻止率の関係を図示すれば第1図の様になる。即ち一般に線量の増加に伴い



第1図　Co-60 照射線量と仔虫形成阻止率（培養30日目に於ける）

○：摘出直後虫卵
△：培養3日目虫卵
×：同　5日目　同
□：同　8日目　同
●：同　10日目　同
▲：同　15日目　同

仔虫形成阻止率は上昇する傾向を示した。又虫卵の障害を発育時期別に見ると，摘出直後の単細胞期ではその出現を認めなかつたが，単細胞期及び2細胞期（培養3日目）では急激に増加し，早期桑実期（培養5日目）では最高に達する。併しその後，後期桑実期及び蝌蚪期（培養8日目）では再び減少し，蝌蚪期及び仔虫期（培養10日目），仔虫期（培養15日目）では著しい低下を示した。上記の現象は著者が前報に報告したX線照射の場合に一致したものであるが，本回の成績を障害出現線量及び障害度より見ると両者の間に相当著明な差異を認めるので，以下この見地よりする Co-60 の γ 線及びX線照射を比較しつつ若干考察を試みたい。

既に実験成績で述べた様に摘出直後虫卵に於ては，24,000 r〜1,200 r の場合何れも虫卵発育の障害を示さなかつたが，前報X線照射時は 25,200 r, 11,300 r の場合夫々 14 %, 11 %の障害を示した。本回は 24,000 r 以上の照射を試みなかつたので障害出現の限界線量を実測

し得なかつたが，浅見等 (1955) の Co-60による単細胞期卵の仔虫形成阻止限界線量を追求した結果によれば，11.0万rから15.3万rの間でこれを理論的に推定すると11.4万rとなり又50%仔虫形成阻止限界線量は5.0万rになるとしている。従つて障害出現にも相当の高線量を要することが推測される。

又発育時期別に見ると培養3，5，8，10，15日目虫卵に於ては，24,000rの場合夫々28%，50%，43%，15%，8%の障害を示したが，12,000r以下の場合，僅かに培養5日目虫卵のみ12,000rでは7%に認めた以外は何れの虫卵に於ても障害を認めなかつた。これに比較してX線照射では，培養3，5，8，10，15日目虫卵に於て，25,200rの場合夫々70%，91%，61%，27%，12%の発育障害を示し，培養3，5，8日目虫卵についてはは3,390rの場合でも夫々18%，20%，18%に認め，培養10日目虫卵では7,910rの場合23%，培養15日目虫卵では11,300rの場合26%に認めている。従つてCo-60による虫卵の発育障害度はX線に比較して遙かに出現し難く又障害を与えるためには，常に相当の高線量を要するものと見なされる。かかる現象の基因としては略ゝ同線量に於ても尙障害に差を来す事実より見て，主としてCo-60のγ線及びX線の線質差に求むべきものと考えられるがその理論的根拠について少しく述べてみる。

Co-60のγ線は1.17及び1.33 Mevの2本のみであり平均1.2 Mevの単一波長と考えてよいとされ又それはX線の最高電圧2,000 kVの平均波長に匹敵すると見なされている。

最高電圧と最短波長の間には一定の関係が存し電圧が高まる程発生する最短波長は短くなることが分つている。従つてCo-60のγ線を2,000 kVの平均波長とすれば，前報X線の電圧は40〜45 kVであり前者の波長は後者の波長に比べ著しく短いわけである。

一方，放射線の細胞に対する作用機転は現在尙不明な点も多いが，その電離作用に伴つて起される化学性反応に基く化学的作用説及びそれと平行して，細胞の一部に特に放射線の敏感域なるものがあり，その部分を放射線粒子が貫ぬいて電離がその中に生じその現象が確率によつて支配されるものと見なす的弾説 Target theory がその理論的解明に有力なものとされている。何れにしても，放射線の生物学的に重要な役割を演ずるのは細胞内に生ずる電子（X線では光電子，γ線ではコンプトン電子）による電離とされている。そしてX線では，照射の通路に於て主に光電効果による吸収及び距離の逆自乗法則により減弱し特に一定の到達距離というものはないが，波長の短いγ線では主にコンプトン効果の散乱に基き減弱すると見なされ，γ線の電離はその到達距離（飛程）の終り，即ちエネルギーを失つた運動の終点近くで最も大きい。従つて物質に入射するγ線の電離の最大の位置はその表面よりも内部にあるとされている。甚だ概説的ではあるが上述の諸点に立脚して考えれば，虫卵を本実験の如き条件（虫卵液の厚さは約1 mm）におき照射した場合，Co-60のγ線はX線に比べて障害を生じ難い現象が一応推測出来るものと思われる。

以上は主に発育能の障害について検討したが，次に抑制に関して述べてみる。虫卵の障害を来す線量の場合，発育過程に於ける I.V. D. は培養10日目虫卵の他，何れも照射後最初の観察（1〜3日後）結果と対照と比較して漸減の傾向を示すことより，Co-60の及ぼす障害乃至抑制作用はX線の場合と同様比較的緩除に出現するものと言えよう。又著者の所謂発育指標虫卵形成率を対照と比較して判定した結果では障害を来さぬ線量に於ても，照射後一定期間両者の間に有意の差を認めた場合にはその期間中発育の抑制乃至遅延を来したと解して差支えないものと思われる。即ち摘出直後虫卵の場合，24,000r，12,000r，4,800rでは夫々照射後5日，培養3日目虫卵の場合，12,000r，4,800r，2,400rでは夫々照射後6日，培養8日目虫卵の場合，同線量では夫々照射後1日，培養5日目虫卵の場合，4,800r，2,400r，1,200rでは夫々照射後6日の間に抑制現象が認められた。X線照射では摘出直後虫卵の場合，2,260r迄は照射後5日を示し，培養3，5日目虫卵の場合，2,260rでは夫々照射後6日，4日であり，培養8日目虫卵の場合，同線量では認めなかつたので，両者は略ゝ相似しており著しい差異は認め難い。抑制作用の機序は不明であるが，Co-60のγ線に於てもX線と同様に細胞の電離が或る程度生じ，ただ量的に不充分なため障害を来す迄には至らず一時的にかかる現象をおこす様にも考えられる。

又24,000r及び12,000r照射後の虫卵についてマウス感染試験を試みた結果，第7表に示す様にその感染例は対照（非照射例）との間に有意の差を示さなかつたことより，虫卵の動物感染能は少くとも悉くが著しい障害を受けなかつたものと推定される。

結　論

1. 豚蛔虫卵を各発育時期別に Co-60を24,000r〜

1,200 r の線量を選び照射後培養を試み，その発育に及ぼす影響を観察した。

2. 虫卵の発育能の障害を仔虫形成阻止率より見ると，子宮より摘出直後の単細胞期では何れの場合も障害を示さなかつたが，その後は急激に増加し単細胞期及び2細胞期(培養3日目)では24,000 r の場合，28 %，早期桑実期(培養5日目)では前記線量及び12,000 r の場合，夫々50 %，7 %に達する。併し以後は漸次減少し後期桑実期及び蝌蚪期(培養8日目)，蝌蚪期及び仔虫期(培養10日目)，仔虫期(培養15日目)では24,000 r の場合，夫々43 %，15 %，8 %を示した。

3. 以上の成績をX線照射時に比較してみると，障害を来す線量は常に高線量を要し又その障害度は比較的低値を示した。

4. 虫卵の障害を来さぬ線量としては，子宮より摘出直後虫卵では24,000 r 以下，培養3, 8, 10, 15日目虫卵では12,000 r 以下，培養5日目虫卵では4,800 r 以下であつたが，この場合に於ても摘出直後虫卵及び培養3, 5, 8日目虫卵では発育過程の一定期間(照射後1〜6日)発育の抑制現象が認められた。

5. 24,000 r 及び12,000 r 照射後の虫卵についてマウス感染試験を試みた結果，対照(非照射例)との間に差異を認めなかつたことより，虫卵の動物感染能は少くとも悉くが著しい障害を受けなかつたものと推測される。

終りに臨み，終始御指導と御校閲を賜つた森下薫教授に深謝すると共に，Co-60照射の御便宜を与えて戴いた山口寿教授に謹謝し併せて絶えず照射の労をとられ又種々御助言を得た楠本五郎氏に厚く感謝の意を表する。

本論文の要旨は昭和31年4月，日本寄生虫学会の第25回総会に於て発表した。

文　献

1) Alicata J. E. and Burr, G. O. (1949) : Preliminary Observations on the Biological Effects of Radiation on the Life Cycle of *Trichinella spiralis.*, Science, 109 (2841), 595–596. —2) Gomberg, H. J. and Gould, S. E. (1953) : Effect of Irradiation with Cobalt-60 on Trichina Larvae., Science, 118 (3055), 75–77. —3) Gould, S. E. Gomberg, H. J. and Bethell F. H. (1953) : Prevention of Trichinosis by gamma Irradiation of Pork as a Public Health Measure., Am. Jour. of Public Health and the Nation's Health, 43 (12), 1551. —4) Hertwig, O. (1911) : Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Ein Beitrag zur experimentallen, Zeugungen und Vererbungslehre., Arch. f. micro. Ana., 77, 1–164. —5) Hertwig, P. (1911) : Durch Radiumbestrahlung hervorgerufene Veränderungen in den Kernteilungsfiguren der Eier von Ascaris megalocephala, Ebenda, 77, 301–311. —6) 沢田卓・大木常松 (1924) : 蛔虫 (Ascaris lumbricoides) 卵子に対するラジウム放射線の影響，愛知医学会雑誌，31 (5), 969–994. —7) Seide, J. (1925) : Zur Kenntnis der biologischen Strahlenwirkung, Untersuchungen am Ascaris-Ei mit Ultravioletten, Röntgen und Radiumstrahlen., Zeitschr. für wissenschaft. Zoologie, 124, 253–304. —8) Zuppinger, A. (1928) : Radiobiologische Untersuchungen am Ascariseiern., Strahlen Ther., 28, 639–758. —9) Holthusen, H. und Zweifel, C. (1932) : Einfluss der Quantengrösze auf die biologische Wirkung verschiedener Strahlenqualitäten (2), Strahlen Ther:, 43, 249–272. —10) 浅見敬三・小林昭夫・斎藤昭三 (1955) : 放射性物質 Cabalt-60 照射による蛔虫卵殺滅に関する研究，I., 寄生虫学雑誌，4 (4), 331–336. —11) 斎藤昭三 (1956) : 放射性物質 Cobalt-60 照射の蛔虫卵発育に及ぼす影響 (2)，日本寄生虫学会記事，239–240. —12) 村地孝一 (1954) : 生物に対する放射線の作用，科学，25 (8), 401–404. —13) 西脇安 (1955) : 放射線傷害の基礎 (1)，自然，10 (5), 14–20. —14) 江藤秀雄 (1951) : 人体と放射線，岩波書店. —15) 吉川春寿・江藤秀雄・筧弘毅共著 (1953) : ラジオアイソトープの医学的応用，東西医学社. —16) 門多魁 (1956) : 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究 (1)，X線の蛔虫生存力及び産卵能並びに子宮内卵発育に及ぼす影響について，寄生虫学雑誌，5 (3), 376–383. —17) 門多魁 (1957) : 放射線の蛔虫生態に及ぼす影響に関する研究 (2)，X線の蛔虫卵発育に及ぼす影響について，寄生虫学雑誌，5 (5), 417–423.

Summary

In the present report the author intends to note the results of experiment on the influence of Cobalt 60 radiation of several doses between 24,000r and 1,200r upon the developmental ability of ascaris eggs. The results were judged by culture method after the procedure.

As to its inhibitory action to embryonation of the eggs, there was no influence upon the fresh eggs just obtained from the uteri, while in those at 3rd day of culture, which are in mono- or 2 cells stage, the inhibitory rate was 28 % when exposed to 24,000r, and in those at 5th day of culture, which are in morula stage, it was 50 % and 7 % by radiation of 24,000r and 12,000r res-

pectively. The inhibitory action, however, fell with eggs after this stage, thus the inhibitory rate was 43 % in those at 8th day of culture, 15 % in those at 10th day of culture, and 8 % in those at 15th day of culture when exposed to 24,000r radiation.

Comparing these results with those obtained by X ray radiation, it can be said that in the case of Cobalt-60, only larger doses can cause inhibitory influence upon the development of the eggs and furthermore, the grade of injury is lower in the present case than in case of X ray radiation.

In the cases of Cobalt-60, however, it was also detected that even by subdosis of radiation a depressive phenomenon in the development is seen during a definite period, 1-6 days after radiation, in fresh eggs and those at 3rd, 5th, and 8th day of culture.

The eggs exposed to 24,000r and 12,000r radiation shew no significant difference in infecting mice as compared with non-irradicated eggs. This may indicate that there occurred no influence of radiation upon the infectivity of the embryos formed in the treated eggs.

Entamoeba gingivalis の生存に対する 随伴細菌死菌体の影響

鈴　木　啓　之
慶応義塾大学医学部寄生虫学教室（主任 松林久吉教授）

（昭和31年12月27日受領）

人体に寄生するアメーバとその随伴細菌との関係は，従来より研究されてをりアメーバの培養に際し随伴細菌群が，アメーバの増殖に必要な条件を維持することは，すでに多数の研究者に依つて明らかにされている事である。即ち培地内に於けるアメーバの増殖は，アメーバ，随伴細菌，培地自体の3者の相互関係に依り成立するもので之等の主要条件を探究することにより，困難とされているアメーバの無菌培養の基礎が一段階づゝ進められて来ているのである。その進歩のうちで特に著しいものは Preconditioned medium の考案であり，これで随伴細菌の発育を阻止した状態でアメーバの培養に成功し，更に単一菌種の随伴でもアメーバの培養に成功した事は，Jacobs (1947)，Shaffer (1948)，斎藤(1951)，能勢(1951)等により報告されているが，それ等は総て生菌に於ける関係であり，菌体自身が栄養素として役立つということも考えられるが，それ以上に細菌の代謝産物及び培地の物理化学的条件を好適にすると云う様な複雑な要素が重要な役割をしている事が想像される。以上の要素のうち細菌菌体自身の影響については Anderson (1952) が研究し，赤痢アメーバの生存に対しその随伴細菌の加熱死菌体が良好な影響を与えたことを報告している。

私も歯齦アメーバに於て，随伴細菌の死菌体を使用して，それがアメーバの生存の状態に好い影響を与えることを知つた。又実験に使用した抗生物質 Colistin の歯齦アメーバに及ぼす影響についても観察を行つたので玆に報告する。

実験材料と方法

実験に使用した歯齦アメーバは Dobell-Laidlaw 培地に長期間継代培養しているS株であり，それは3種類の随伴細菌を含んでいるものである。その同定は東京歯科大学微生物学教室に依頼した結果，*Aerobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus epidermidis* と決定した。その生物学的性質の詳細は第1表に示した。

第1表 *Entamoeba gingivalis*（S株）随伴細菌の同定

同定試験＼細菌種	*A. aerogenes*	*B. subtils*	*M. epidermidis*
Gram 染色，形態	G (−)，桿菌	G (+)，有芽胞大桿菌	G (+)，球菌時に双球
寒天平板に於ける Colony 形態	中等大 smooth	襞の有る拡大性発育	中等大 smooth
血液平板	非溶血性 (γ)	完全溶血 (β)	溶血稍ゝ弱し (β')
Bouillon.	強い混濁菌膜有り	清澄，表面に厚い菌膜	強い混濁菌膜有り
Indol.	−	−	−
Methyl-red.	−	−	−
Voges-Proskauer	±	±	±
Citrate.	∓	−	−
Katalase.	+	+	−
牛乳酸凝	+	+	+
硝酸塩	+	+	+
Gelatin	−	+	−
備考	G (−)，固有運動，Invic-test 及び Gelatin の液化性のないことより，*A. aerogenes* と同定	G (+) 大桿菌特異な集落，及び Bouillon に厚い菌膜を作る点で *B. subtilis* と同定	*M. epidermidis* の性状を有しているが Katalase (−) という点で疑義を残す

それ等の細菌を個別に寒天斜面培地に純培養として保存し，実験を行うにあたりそれぞれ寒天平板培地に通法の如く塗抹し，37°C, 24時間培養して増菌し，その集落を集めて実験に使用した。

KEISHI SUZUKI: Effects of heat-killed bacterial cells upon the survival of *Entamoeba gingivalis*. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo).

実験に使用した基本培地は Dobell-Laidlaw 培地で直径1.5 cm, 長さ約12 cm の試験管に約1.5 cc の滅菌健馬血清を入れ, 血清凝固器で80°C 約40分加熱し斜面に凝固したものを固形部とし, 液体部は滅菌馬血清1に対し, リンゲル氏液8の割合のものを全量が5 cc となる様に重層したものである。

実験方法としては, 上記の純培養した3種の随伴細菌を各々1白金耳量(約15 mg)宛一緒に3 cc のリンゲル氏液中に混入したもの(混合細菌種), 又は一種類の随伴細菌を3白金耳量を混入したもの(単一菌種)をそれぞれ120°C, 15ポンド, 約20分間高圧滅菌し, その液が冷却したら1:8の割合になる様に無菌馬血清を加え, 更に液体部1 cc 中 penicillin 5,000 u, colistin 5,000 u の濃度に抗生物質を加えた。

又他の実験では, アセトン, ドライアイスを使用して3種混合した随伴細菌の凍結融解を行ひ, その液を細菌濾過器で濾過し, 菌体を含まないその濾液を使用した。

対照としては, Dobell-Laidlaw 培地に死菌体を加えず, 実験群と同濃度の抗生物質を加え, 全体の液体部が5 cc となる様にしたものを使用した。又総ての実験に於て通法の如く滅菌米粉を加えた。

斯様に調製された実験群並びに対照群に対しS株の最増殖時の歯齦アメーバ(培養後48〜72時間経過したもの)を集めて, それを37°C に保温した培地の液体部と同様の液で1,000回転, 約1分間で2回遠心沈澱器で洗滌し, その沈渣を良く混和して, それぞれの培地に0.3 cc 宛移植し, 総ての培地にアメーバが均等に移植される様に特に注意した。

斯の如くすればアメーバと共に移植された随伴細菌は, 抗生物質の作用により増殖を抑制されアメーバのみが生存し, 対照と比較してアメーバの生存状態を一つの培地で日時を追つて観察し, 両者間のアメーバ生存日数及び虫体の生活状態により, 加えた死菌体又は菌体融解物質の影響を検討しようとした次第である。(但し継代培養は行わず)。

又培地内にアメーバと共に移入された共棲菌が完全に増殖を抑制されたか否かを調べる目的で, 3日経過した実験群及び対照群の培地底部の液を, 約0.2 cc 宛チオグリコール酸培地に移植して約1週間細菌の発育の有無を観察した。

又随伴細菌を抑制する為に penicillin, colistin の両者を併用した理由は, 実験に使用したS株の共棲細菌が私の以前に行つた実験で streptomycin に抵抗性を有し, penicillin と streptomycin の併用では細菌の発育を阻止することが出来ないので, 特にグラム陰性菌に作用する colistin に注目し, penicillin と併用した。之によつて共棲細菌の発育を阻止し, 且つアメーバに対し影響を与え無い colistin の濃度を確める事が出来たので予備実験としてそれを以下に記述する。

実験成績

〔予備実験〕

colistin の歯齦アメーバに及ぼす影響

実験に使用した歯齦アメーバS株の随伴細菌は, 前述の様に penicillin と streptomycin との併用では細菌の発育を阻止する事が出来ないので, penicillin と colistin を併用することにした。

先ず colistin の適当な濃度を知る為に, colistin の各濃度に於ける培地中のアメーバの生存状態を観察し, 次に penicillin と併用してアメーバの随伴細菌の発育を阻止し, 且つアメーバに対し影響の少い濃度を確立する事が出来たのである。

a. colistin の各濃度に於ける歯齦アメーバの影響

実験に使用した歯齦アメーバは上記と同様のS株で Dobell-Laidlaw 培地に長期間継代培養しているものである。又実験培地も Dobell-Laidlaw 培地で液体部を5 cc とし, 液体部1 cc 中に含まれる colistin の濃度を夫々100,000 u, 50,000 u, 25,000 u, 10,000 u, 5,000 u, 25.00 u, 1,000 u の7段階とし, 更に colistin を含まない Dobell-Laidlaw 培地を対照としてアメーバを均等にそれ等の培地に移植し, アメーバの増殖状況を観察した。その成績は第2表に示してある。

第2表 colistinの各濃度に於ける *E. gingivalis* の影響

日数 \ fer cc. 濃度 万単位	10	5	2.5	1	0.5	0.25	0.1	対照
1	−	−	±	+	+	+	+	+
2	−	−	±	±	+	+	++	++
3	−	−	−	±	+	+	+++	+++
4	−	−	−	−	±	++	+++	+++
5	−	−	−	−	±	+++	+++	++
6	−	−	−	−	−	+++	++	++
7	−	−	−	−	−	++	+	±

即ち20回の実験成績の結果は, 1 cc 中100,000 単位の colistin を混入した培地では, 総ての実験群に於てアメーバの存在は認められず, 24時間経過した培地

中でアメーバは変性壊死し，生存虫体はその後の経過に於ても全然認められなかつた。

1cc 中50,000単位の培地では，100,000単位のそれと同様な状態でアメーバの生存は認められなかつた。

1cc 中25,000単位混入培地では，実験群の大部分に於て24〜48時間頃までは弱拡大数視野中に1〜2の球状を呈した未だ生存していると思われる虫体が認められたが，それ以上の経過ではアメーバの生存も認めず，又増殖して来るものは無かつた。

1cc 中10,000単位混入培地では，25,000単位混入の実験よりも，稍〻アメーバの生存状況は好い様に思われるが，球状となつた虫体が少数3日目頃まで認められたが，その後には生存虫体は認められなかつた。

1cc 中5,000単位混入した培地では，総てに於て少数ではあるが生存虫体が4〜5日目頃まで認められており，又その後の経過中20例中13例はアメーバは死滅したが，残りの7例に於ては4，5日目頃より虫体が運動を示し，以後少数ではあつたがアメーバの増殖が行われ10日を経ても依然として虫体が生存しているのが認められた。

1cc 中2,500単位混入培地では，総てのアメーバの増殖が認められ対照と比較して，アメーバの増殖期の遅延があり，即ち対照では2〜3日目頃より増殖して来るが，この実験群では4〜5日目より増殖して来る状態であつた。

又1cc 中1,000単位混入培地では，アメーバは対照よりも稍〻増殖の延長を示しているが，その発育の状態は対照と大差ない。

次に各濃度に於ける培地中に発育して来た細菌を寒天平板培地に増菌してからグラム染色を行い，グラム陰性菌の状態を観察してみると100,000 u，50,000 u，25,000 u，10,000 u の colistin 混入した培地では，総てグラム陰性菌は認められず陽性菌のみの発育があつたが，その陽性菌でも colistin の高濃度になるに従つて発育が少ないことが，平板培地の細菌の集落の状態と培地液体部の混濁状態で認められた。然しながら5,000 u colistin 混入培地では，大体に於てグラム陰性菌を阻止した状態でアメーバの生存時間が一番長かつた。併し中にはグラム陰性菌が増殖して来るものもあつた。又アメーバが単に生存したと云うだけでなく明らかに増殖を示したものでは，総てグラム陰性，陽性両菌とも発育していた。1cc 中2,500，1,000単位混入したものでは，アメーバも増殖を示す代りに，随伴細菌のグラム陰性菌も阻止することが出来なかつた。

以上の成績により1cc 中5,000 u の colistin を混入した培地が，グラム陰性菌の発育を阻止し，且つアメーバに強い作用を与える事がないので之を penicillin と併用して完全にS株の随伴細菌を阻止出来るかどうかを次の実験で行つた。

b. colistin と penicillin 併用に於ける歯齦アメーバとその随伴細菌の状況

この実験では，penicillin の濃度は1cc 中5,000 u と定めておき，それに併用する colistin の濃度をそれぞれ1cc につき10,000 u, 5,000 u, 2,500 u, 1,000 u の4段階とした。又一方 penicillin と streptomycin とを併用した実験も行い，之も上記と同様に penicillin の濃度は1cc 中5,000 u で，streptomycin の濃度をそれぞれ20 mg，10 mg，5 mg，2.5 mg として両者共にS株の歯齦アメーバを均等になる様特に注意して移植した。そして日時を追つてアメーバの状況を観察すると同時に，移植後3日目に0.2 cc の液体部をチオグリコレート無菌試験培地に移植して，細菌の発育の有無を検査した。

第3表 penicillin, colistin と penicillin, streptomycin の併用に於ける歯齦アメーバ及び随伴細菌の発育状況

抗生物質 液体部1cc中濃度 ＼ アメーバ生存日数	penicillin 5,000 u							
	colistin				streptomycin			
	10,000 u	5,000 u	2,500 u	1,000 u	20 mg	10 mg	5 mg	2.5 mg
1	±	+	+	++	+	+	++	++
2	±	±	+	+	±	+	+	++
3	−	−	±	+	−	+	+	++
4	−	−	−	+	−	±	+	++
5	−	−	−	±	−	±	+	+
細菌発育	(−)	(−)	(±)	(+)	(∓)	(±)	(+)	(+)

実験10例に於ける綜合的な成績は第3表に示してある。

以上の実験成績より penicillin と colistin とを併用した培地では，colistin の濃度が培地液体部1cc 中 10,000u，5,000u の両者では，総ての実験群に於て随伴細菌の発育は阻止され，アメーバの生存状況は2日目頃までは球状に変性した極く少数の虫体が認められた。2,500u のものでは，細菌の発育を完全に阻止出来ないものもあつた。即ち10例中4例に於ては無菌試験培地に軽度の混濁が3〜4日目頃より現われた。又1,000u の colistin の培地では全例に於て細菌の発育が認められ，この濃度では随伴細菌の発育を阻止する事が出来なかつた。

次に penicillin と streptomycin との併用では，上記の表の如く相当大量に streptomycin を混入しても，総ての実験例に於てその随伴細菌の発育を阻止する事が出来ず，液体部1cc 中20mg を混入したものでも10例中3例に於て，無菌培地が約1週間頃より混濁を示した。又それ以下の濃度では全く随伴細菌を抑制出来ず，アメーバも長期間の生存を認め，それには随伴細菌の軽度な増殖による影響とも考えられるので，本実験に際し正確な価を得る事は疑問と思い，penicillin と streptomycin との併用はさけ，penicillin と colistin 両者を併用することにした。

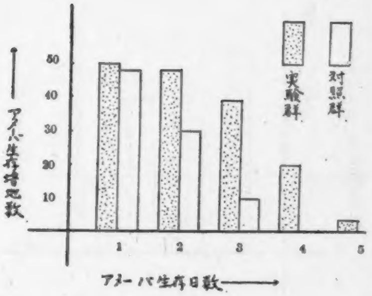
以上の実験成績より培地液体部1cc 中に，colistin 及び penicillin を夫々5,000u を使用した場合には，S株の随伴細菌の発育を阻止し，歯齦アメーバに対する影響も少い事が分つたので，本実験に上記の濃度を使用する事とした。

〔本 実 験〕

1. 3種混合随伴細菌死菌体の影響

純培養したS株の3種随伴細菌体を，それぞれ1白金耕量宛混合し，それを高圧滅菌じて死菌体として，それを混入した実験培地と，死菌体を含まない培地即ち対照とに，アメーバを移植して，そのアメーバの生存状況及び生存日数を両者比較観察した。実験及び対照例夫々50例に於けるアメーバ生存培地数と生存日数との関係は第1図に示してある。

即ち死菌体を加えた実験例に於ては，50例中大部分のものは1〜2日目までアメーバは生存しており，3日目に於ては50例中39例で，それ以後アメーバの生存培地は少くなり，5日目まで生存していたものは4例でそれ以後アメーバの生存は認められなかつた。



第1図 3種混合死菌体加培地と対照とに於けるアメーバ生存培地数と生存日数との関係（各々50例）

これに対し対照例では，1日目までは大部分アメーバは生存していたが，2日目よりは少なくなつて行き3日目には50例中8例だけ生存しており，それ以後生存しているものはなかつた。

次に実験群と対照とに於ける培地中のアメーバ生活状況を観察してみると，死菌体を加えた方が対照よりも生存虫体数も多く，1〜2日目頃では1視野 (10×10) に2〜5の主として球状となつた虫体を認め，中には少数ではあるが運動虫体も認められた。対照では24時間後にはすでに数視野に1〜2の状態で数も少く，生存していても総て球状となり運動している虫体は皆無であつた。死菌体を加えた実験群でも3日目になると虫体数も少く，球状を呈し運動虫体は全然認められなかつた。4日，5日目には全視野に2〜3の球状の虫体が生存していた状態である。

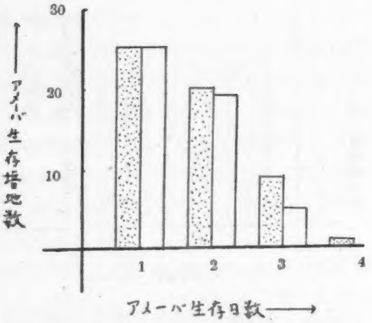
又実験群に於ける培地中のアメーバ平均生存日数は3.2日で，之に対し対照群の平均生存日数は1.75日である。両者間の生存日数の差は1.45日となり之は両者間に有意義の差を認め，3種混合細菌の死菌体を加えた方が，歯齦アメーバの生存を延長せしめる事を認めた。

II. 3種随伴細菌体分解物質濾液の影響

上記の実験では，細菌体自身を加え歯齦アメーバの生存に良い影響を及ぼす事が明らかとなつたので，次に菌体を加えず菌体融解物質が，アメーバにどの様な影響を与えるかを確める為に，アセトン，ドライアイスを使用して随伴細菌の凍結融解液を作り，それを細菌濾過器で濾過し，その濾液を使用した。

実験群に対し添加した抗生物質の濃度，及び移植，観察の状態は上記と同様である，

実験例及び対照例夫々25に於けるアメーバの生存日



第2図　3種随伴細菌分解物質加培地と対照とに於けるアメーバ生存培地数と生存日数との関係（各々25例）

数と生存培地数との関係は第2図に示してある。

即ち実験例25例に於て1日目までは総ての例に少数なアメーバが生存していたが，2日目よりアメーバの生存培地数は少くなり，3日目には25例中10例，4日目まで生存していたものは2例しかなかつた。これに対し対照例では1日目までは総てアメーバが生存していたが2日目より少くなり，一番長く生存していつたのは3日目までで25例中4例であつた。

又両者に於けるアメーバの生存状況は，実験群に於ては1日目よりアメーバの数は少く球状を呈し，運動虫体は全然認められず，数視野（10×10）に2〜3の生存虫体が認められ，此の状態は対照の1日目の培地中の生存しているアメーバと大差なく，僅かに実験群の方で虫体数が多いと思われる程で，以後の時間の経過と共に，両者の生存虫体数は減少して行つたが，実験群の方が稍ゝ生存虫体が長く残つている様に思われた。

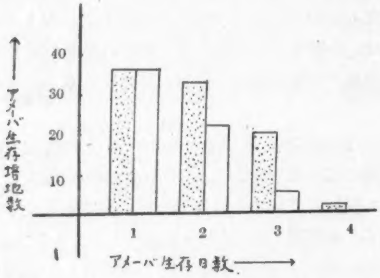
次に両者に於けるアメーバ平均生存日数は，実験群では2.45日，対照では1.92日で両者の生存日数差0,53日は有意の差とは認められなかつた。然しながら対照のアメーバよりは悪いことは無く，濾液の中にも極く少いけれども良好な物質の存在は認められると思われる。しかし此の細菌体物質の濾液を加えたものと，上記の死菌体を加えたものとを比較すると，アメーバの生存日数の延長，虫体の数及び生活状態より，明瞭に細菌体を加えた方が良好である事が認められた。

III. 単一随伴細菌死菌体の影響

以上の実験成績より，3種混合細菌死菌体の影響が良好な事が明らかとなつたので，次にS株の随伴細菌である *A. aerogenes*, *B. subtilis*, *M. epidermidis* の3種をそれぞれ1種類宛3白金桝量高圧滅菌し，それを加えて如何なる死菌体がアメーバの生存に良好な影響を与えるかを検討した。

1) *Aerobacter aerogenes* 死菌体の影響

A. aerogenes を高圧滅菌し，死菌体として加えた実験に於ける歯齦アメーバの生存培地数と，生存日数との関係は第3図に示してある。



第3図　*A. aerogenes* 死菌体加培地と対照とに於けるアメーバ生存培地数と生存日数との関係（各々36例）

実験群に於けるアメーバ生存培地数の状態は，1〜2日目までは生存虫体を認められた培地が大部分で，3日目に於て36例中20例の生存培地があり，4日目には急に少なくなり2例のみ生存虫体の存在している培地があつた。これに対し対照では，前の実験例と大差なく生存虫体培地数は2日目には36例中22例，3日目には3例となり4日目まで生存しているものは無かつた。

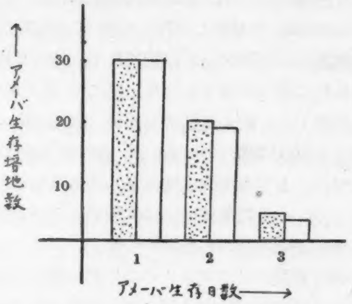
又実験群と対照とのアメーバの生活状態を観察してみると，実験群では1〜2日目までは弱拡大（10×10）で1視野中1〜3の生存虫体を認め，極く少数ではあるが運動虫体も認められた。それ以後はアメーバは総て球状を呈し，数も少く4日目まで生存していた虫体は少数で変性一歩前の状態を呈していた。之に対し対照に於けるアメーバは，前記の実験の状態と同様で，1〜2日目より球状を呈し，数も少く，実験群よりも不良であつた。

次に両者に於けるアメーバ平均生存日数は，実験例では2.56日，対照例では1.69日で両者の生存日数の差は0.87日であり，この差は有意義であり，*A. aerogenes* の死菌体は歯齦アメーバに良好な影響を与えた。

2) *Bacillus subtilis* 死菌体の影響

此の死菌体の歯齦アメーバに及ぼす影響は，第4図に示してある。

此の死菌体を加えた実験例と対照夫々30例に於ける



第４図 *B. subtilis* 死菌体加培地と対照とに於けるアメーバ生存培地数と生存日数との関係（各々 80 例）

アメーバ生存培地数と生存日数との関係は，実験及び対照とも大差なく，即ち１日目までは両者共に総ての培地に生存アメーバを認めたが，２日目には実験例 10 例，対照 13 例の培地中にアメーバが認められず，３日目にはそれぞれ４例，２例のアメーバ生存培地が認められたにすぎなかつた。

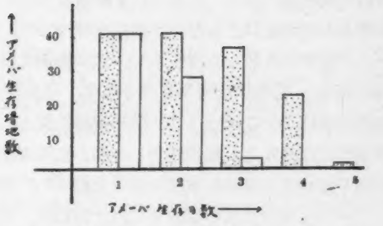
又培地中に於けるアメーバの生活状態を見るに実験群も対照群も 24 時間後には虫体数は少数となり球状を呈し，変性像が多く，此の死菌体を加えたのでは対照と比較してアメーバの生存に好影響を与えると云う所見は得られなかつた。

次にアメーバの平均生存日数は，実験群では 1.80 日，対照では 1.63 日で両者の生存日数差 0.17 日は有意の差と認められない。以上の事柄より *B. subtilis* の死菌体は歯齦アメーバの生存に対して認むべき影響を示さないことが判明した。

3) *Micrococcus epidermidis* 死菌体の影響

この細菌の死菌体は，他の２種 *A. aerogenes*, *B. subtilis* の死菌体よりも歯齦アメーバに対する影響が良好な成績を示したものでる。実験及び対照夫々 41 例に於ける歯齦アメーバの生存日数と生存培地数との関係は第５図に示してある。

即ち此の死菌体を加えた実験 41 例に於ては，１，２日目までは総ての培地中にアメーバは生存しており，３日目に於ては生存培地数は 37 例となり，４日目には 24 例，５日目１例となり比較的アメーバは長く生存をしていた。之に対し対照では上記の実験の対照例と大差なく，１日目は総て少数のアメーバが認められたが，２日目より生存培地数は少くなり，３日目まで生存していたものは僅か２例にすぎなかつた。



第５図 *M. epidermidis* 死菌体加培地と対照とに於けるアメーバ生存培地数と生存日数との関係（各々 41 例）

又培地中に於けるアメーバの生存状況も，対照と比較して明らかに良好で，1〜2 日頃までは１視野中 (10×10) に 3〜5 位の生存アメーバを認め，なかには運動している虫体も少数ではあるが認められた。３日目頃よりアメーバの数も少くなり球状を呈し，４日目には少数の球状の変性しかゝつたアメーバの存在を認め，５日目までは１例のみアメーバの存在を認めたが，それは全視野に２つだけの変性した球状のアメーバである。

対照では，前の実験に於ける対照例と大体に同様で，アメーバの数も少く球状を呈し，此の死菌体を加えたものよりも遙かにアメーバの状態は不良である。

次に実験群と対照とに於けるアメーバの平均生存日数は，実験群では 3.44 日で，対照では 1.73 日である。そして両者の生存日数の差は 1.71 日で有意義の差を認めた。

考　按

アメーバに随伴する細菌自体の栄養素としての役割に関しては，Shaffer (1948)，Balamuth (1951) 等により報告されているが，熱処理した死菌体を加えてその影響を検討しているのは，Rees (1941) で，彼は赤痢アメーバに於て streptococcus NIH 563 の死菌体を使用してアメーバの発育を認めたが，対照と大差ないと報告している。Anderson (1952) は赤痢アメーバの生存に対し死菌体の影響を更に詳細に観察し，死菌体中にアメーバを生存せしめる要素があり，細菌培養の濾液，乾燥細菌の種々な薬物の抽出物中には，その要素を証明することは出来なかつたと報告している。沢田 (1950, 1953) は，培養赤痢アメーバに於て，大腸菌に属する株 13 株，連鎖球菌属 11 株，葡萄状球菌属２株，赤痢菌属 10 株，B. mycoides 変異株１株を使用して，それを生菌として各

々田辺千葉培地に加え，アメーバを移植してアメーバの随伴細菌の発育を阻止しないで観察を行つたが，総てアメーバの発育に良好な成績を示し，次に特別に良かつた *B. mycoides*, 葡萄状球菌209株寺島株，連鎖球菌を夫々加熱死菌体(80°C 40分)及び凍結融解物質として石井久津見培地に混入し，継代培養した所，血清を含んでいる田辺千葉培地と同様な成績を得たと報告し，生菌としてアメーバの発育に良い影響を及ぼす細菌は，死菌体及び融解物質としても良好であると言つている。又当教室の篠原は，口腔トリコモナス及び腸トリコモナスの随伴細菌死菌体の影響を研究し，極く軽度な良い影響を示したと報告している。

そこで私の上記の実験より歯齦アメーバの随伴細菌死菌体の影響を検討してみると，それは Anderson の研究と同様な成績を得た。即ち歯齦アメーバの随伴細菌熱処理死菌体が，アメーバの生存に対し，良好な影響を与へ，その死菌体中にアメーバを対照よりも長く生存せしめる要素の存在することが認められた。然しながらその死菌体を加えた培地に於て，アメーバが増殖して行くことは全く無く，対照と比較してアメーバの生存時間の延長，生存虫体数，運動の状態は良好であるが，これだけの培地で継代培養を試みても恐らく不可能であろう。

次に随伴細菌の凍結融解した物質の濾過液を使用して，菌体を含まないもので実験した成績では，以前に Rees (1941)が，Escherichia coli communis NIH 413 と streptococcus NIH 563 の種々の凍結融解の無菌濾液を添加して実験したが失敗したと報告している。

私も随伴細菌の凍結融解の濾液を使用して実験を行つたが，その成績は対照よりも僅かに良いと思われるが，培地中に於けるアメーバの状態は虫体数も少く，運動している虫体は殆んど認められず，総て球状を呈しており単に対照より生存日数が少し延長する程度で，死菌体を加えたものと比較すると明らかに培地中のアメーバの状態が悪いのである。この事はアメーバが細菌を摂取する事に深い意義があり，菌体を含んでいないものの方がアメーバの生存に良好な影響を与えることが少いと云う成績は Anderson の成績と一致している。即ち菌体を入れた場合のみにアメーバはよく増殖し，菌体の抽出物を加えたのではアメーバは良く増殖しなかつたと云う結果と同様である。

次に随伴細菌の単一菌即ち，*A. aerogenes*, *B. subtilis*, *M. epidermidis* の各々を死菌体として加えた実験を行つたが，その成績は各種の菌体により異なつた成績を示した。最も歯齦アメーバに良好な成績を示したものは，*M. epidermidis* で対照と比較して総て生存時間が延長し，虫体数及び運動状況も比較的良く，他の2種の菌体より明らかに良い成績であつた。次には *A. aerogenes* で之は対照よりも稍ゝ良好であるが，*M. epidermidis* と比較すると成績は劣つている。*B. subtilis* を死菌体としたものでは，上記の実験成績に示してある如く対照と全く差はなく，その死菌体中には歯齦アメーバの生存を延長せしめる要素が認められなかつた。

斯の如く菌種によりアメーバの生存に対する影響が異なるのは，死菌体だけとは限らず生菌体に於ても，随伴細菌の単一菌の種類でアメーバの発育の異なることを，Balamuth (1951)，Shaffer (1949)，斎藤(1951)，能勢(1954)等が報告している。そこで死菌体として良好な影響を及ぼす随伴細菌が，生菌体として使用した場合に良好であるかということは，必ずしも簡単に定めることは出来ない。それは生菌体の場合には菌体自身の栄養のみでなく，その代謝産物，培地との関係等複雑な要素があり，その良好な死菌体が生菌の時に其等の諸条件を総て満足する事が出来るか否かという事が問題点である。それ等の条件を十分に満足する作用をしなければ，いかに死菌体として作用が良好でも，生菌の場合にはアメーバの発育は維持されないと思われる。然しながら沢田(1950, 1953)は，アメーバの発育に生菌として良好な成績を示した菌種は，死菌体及び凍結融解物質としても良好であつたと報告しているが，それはアメーバの随伴細菌の発育を完全に阻止した状態で行つた実験成績ではないので，その随伴細菌の影響のことも相当大きな問題として取上げねばならないと思われる。

又死菌体として良好であつた *M. epidermidis*, *A. aerogenes* の2者を培地に混入した場合，培地の液体部は均等に混濁したが，*B. subtilis* の場合には混入した死菌体が培地の底部に密に沈澱し上層部の液体部は透明となつていた。

この事柄は両者死菌体の影響の差を説明する1つの要素となるのではなかろうか。

結　論

私は *A. aerogenes*, *B. subtilis*, *M. epidermidis* の3種を随伴細菌としている培養歯齦アメーバS株に，それら随伴細菌を熱処理死菌体とした後に混入し，アメーバの生存状況を観察すると共に，colistin の歯齦アメーバに及ぼす影響をも検討した。

1. colistin の歯齦アメーバに対する影響は，高濃度では amoebacidal に作用し，低濃度では，アメーバ増殖期の遅延及び生存の延長を認め，アメーバに影響を及ぼさなかつた。

2. 培地液体部 1 cc 中に colistin 5,000 u, penicillin 5,000 u の混入でS株の随伴細菌の発育を阻止し得た。

3. 3種混合随伴細菌死菌体の歯齦アメーバに及ぼす影響は，比較的良好で実験群の平均生存日数は 3.2 日で，対照 1.75 日より良く，両者の生存日数の差は有意義と認められた。

4. 3種混合随伴細菌の凍結融解した無菌濾液は，歯齦アメーバの生存日数を延長せしめる点で，死菌体よりもその作用は劣つているが，対照に比較すればなお軽度ながらその作用が認められた。

5. 単一随伴細菌死菌体の歯齦アメーバの生存に及ぼす影響を検討した。

その結果 *M. epidermidis* が最も良好でアメーバの平均生存日数は 3.44 日であり，*A. aerogenes* の死菌体が之に次ぎ平均生存日数 2.56 日で両者共に対照とに於けるアメーバの生存日数の差は有意義と認められた。*B. subtilis* の死菌体の影響は，歯齦アメーバに対し全然影響が認められず，対照に於けるアメーバの生活状況と大差なかつた。

御指導，御校閲を賜つた松林教授，浅見助教授に深く感謝すると共に，細菌学方面の研究に御援助を賜わつた東京歯科大学微生物学教室米沢教授，森山講師に謝意を表する。

文　献

1) Balamuth, W., Wieboldt, M. L.(1951): Comparative growth cycle of *E. histolytica* with diffe rent combination of bacteria. Am. J. Trop. Med., 31, 192-205, —2) Bergey, D. H.(1939): Maunal of determinative Bacteriology. The William & Wilkins Company., Baltimore. —3) Jacobs, L.(1947): The elimination of viable bacteria from culture of *E.histolytica* and subsequent maintenance of such cultures. Am. J. Hyg., 46, 127-176, —4) Korlsson, J. L., James, M. B. and Anderson, H. H.(1952): Studies on nutritional principles for *E. histolytica* in autoculaved bacterial cell. Exp. Prasit, 1, 347-352, —5) 松林久吉(1947): 赤痢アメーバ，東西弘版社，—6) 松林久吉(1947): 原虫性腸疾患，学術書院，—7) 森政和(1955): 口腔原虫について，口腔細菌学の進歩，永末書店，157-179, —8) 能勢好夫(1954): 二核アメーバの培養に及ぼす影響，4. 単一細菌ならびに種々の細菌の実験的菌群構成によるアメーバの培養，日新医学，41: 425-434, —9) Rees, C. W., Reardon, L. V., Jocobs. L., and Jones, F.(1941): Problems encountered in *E. histolytica* in cultures developed by microislation. Am. J. Trop. Med., 21, 567-578, —10) Saito, M.(1951): On the influence of bacterial flora upon the excystation and subsequent multiplication of *E. histolytica* in culture media. Kitasato Arch. Exp. Med., 24, 87-96, —11) Saito, M.(1953): Cultivation of *E. histolytica* without actively growing bacteria. 1. Cultivation in the preconditioned medium added with antibiotics. Kitasato. Arch. Exp. Med., 25, 245-252, —12) 沢田利貞(1950): 赤痢アメーバの培養に関する研究，第2篇，各種細菌の菌体又は加熱死菌体の培養赤痢アメーバの発育に及ぼす影響，日本細菌学雑誌，5(6), 421-424, —13) 沢田利貞・瀬理忠一(1950): 赤痢アメーバの培養に関する研究，第3篇，ウマ血清及び鶏卵を含有しない赤痢アメーバの培養基について(I)，日本細菌学雑誌，5(6), 425-428, —14) 沢田利貞・瀬理忠一(1950): 赤痢アメーバの培養に関する研究，第3篇，ウマ血清及び鶏卵を含有しない赤痢アメーバの培養基について(II)，日本細菌学雑誌，5(6), 426-431, —15) Sawada, T., Suzuki, I. & Oka, T.(1953): Bacterial cell components as a substitute for serum in the culture medium for *E. histolytica*. The Gunma, J. Med. Sciences., II, 2, —16) Shaffer, J. G., and Frye, W. W.(1948): Studies on the growth requirements of *E. histolytica* 1. Mainteance of a strain of *E. histolytica* through out 100 transplant in the absence of an actively multiplying bactenrial flora. Am. J. Hyg., 47, 214-221, —17) Shaffer, J. G., Ryden, F. W., and Frye, W. W.(1948): Studies on the growth requirements of *E. histolytica*. III The growth and multiplication of two strains of *E. histolytica* in a transparent medium without the addition of rice flowr or other particulate matter and without demonstrable bacterial growth. Am. J. Hyg., 47, 345-350, —18) Shaffer, J. G., Ryden, F. W.(1949): Studies on the growth requrements of *E. histolytica*. IV. Further Observations on the cultivation of *E. histolytica* and other intestinal protozoa in a clear medium without demonstrable bacterial multiplication. Some modifications and simplifications of the medium. Am. J. Hyg., 49, 127-133, —19) 篠原隆(1956): *T. elongata* と *T. hominis* の生存に対する随伴細菌死菌体の影響，第25回日本寄生虫学会総会発表．—20) Spingarm, C., Edelman, M.(1948): The use of streptomycin in the cultivation of *E. histolytica* from stools. Am.

J. Trop. Med., 28, —21) 鈴木啓之(1954) : *E. gingivalis* の培養に就いて, 歯科学報, 54, 100-104, —22) 米沢和一(1952) : 口腔細菌学, 永末書店,

Summary

An experiment was carried out to elucidate the utility of bacterial cells as a food of *Entamoeba gingivalis in vitro*. The living bacteria are indispensable for the growth of *E. gingivalis in vitro*. They seem to provide food and some physico-chemical conditions favourable for the amoebae. In the present study, several species of heat killed bacteria were suspended in a sterile culture medium in which *Entamoeba gingivalis* were inoculated. Before the inoculation, amoebae were washed repeatedly by centrifugation to get rid as much of the associated bacteria as possible. Antibiotics (penicillin and colistin) were added in an amount which was sufficient to stop the growth of bacteria introduced with amoebae, but not harmful for the survival of the amoebae.

Three species of bacteria were used in this experiment: *Aerobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis* and *Micrococcus epidermidis*. These bacterial species were added separately or together to the medium. Bacterial substance freed from bacterial cell by freezing and melting method was also examined instead of bacterial cells. Control experiment was always carried out with the same medium without the addition of bacterial cells or substance. In these media, amoebae do not multiply as the bacteria do not grow. The days of survival of amoebae were observed in test and control experiments and the effects of bacteria were estimated.

In control experiment, amoebae survived in only 8 out of 50 tudes after 3 days and none remained alive after 4 days. In tubes containing three species of bacteria amoebae survived much longer: in 39 tubes after 3 days and in 4 tubes after 5 days among 50 tubes examined. None remained alive after 6 days. Number of living amoebae in experimental tubes was much larger than in control tubes in every day of the examination.

In tubes containning lysed substances of the three species of bacteria, amoebae were likely to live a little longer than in control tubes. But the difference was not significant.

When each of the bacterial species suspended separately into the medium, *Micrococcus epidermidis* exerted the most favourable influence upon the survival of the amoebae. With this species of bacteria amoebae survived in 37 out of 41 tubes after 3 days, in 24 tubes after 4 days and in 1 tubes after 5 days. With *Aerobacter aerogenes*, amoebae survived in 20 out of 39 tubes after 3 days and in only 2 tubes after 4 days. With *Bacillus subtilis*, amoebae survived in only 2 out of 30 tubes after 3 days and disappeared in all tubes on the next day. Therefore, *B. subtilis* were likely to have had no favourable effect upon the survival of the amoebae.

二，三の新抗生物質の培養赤痢アメーバに対する作用

高田季久
大阪大学微生物病研究所寄生虫原虫学部*
(部長 森下薫教授 主任 猪木正三教授)

(昭和32年1月18日受領)

緒言

抗生物質の研究の進歩につれて，真性細菌類に対して効力があるのみならず，同時に真菌類並に原虫類に対しても効力を示す物質，或は後者に選択的に働く様な抗生物質の発見報告が，盛に行われる様になつて来た。

特に抗原虫剤の研究は，その一部生物学的性状の類似性から，抗ガン性抗生物質の研究と相俟つて，近年非常に重要視される様になつて来ている。

筆者は，数年来新らしく発見報告されている多くの新抗生物質及びその他の化学薬品等に就て，その抗原虫作用特に赤痢アメーバに対する作用に就て種々検討しているが，その内 *in vitro* に於て，他と比較し，かなり優秀な抗アメーバ作用を示し，且その臨床的応用も有望と思われる4種の抗生物質を見出したので，それ等の抗アメーバ作用の概要を報告すると共に，併せて他の数種の既知の抗アメーバ剤に就ての観察成績をも附記し，これと比較検討したいと思う。

実験材料

試供赤痢アメーバ： 比較的培養成績の安定し，且各々他の株と比較して生物学的に特長をもつと思える次の4株のアメーバを使用した。

Y株： 1950年11月患者便中の栄養型を分離したもの
H株： 1951年5月同上分離培養
U株： 1952年5月 〃
W株： 1953年1月患者回復期のチステより分離

各株共に後述の W. B. 1培地により継代培養を行つており，37°C 48時間後に最も良く増殖する。

各アメーバ株は，使用に際して，あらかじめ多くの培地に充分増殖せしめ，48時間後にそれ等を集め，1 cc 中に15万乃至20万前後の原虫を含む浮游液として使用した。

使用培養基： 実験に必要な量のアメーバを得るため，増殖用培地として，二層性の W. B. 1培地を用い，薬剤検定用としては，全血加液体培地を使用した。

これ等2種の培地は，共に猪木等(1950，1951，1953)の考案報告によるものであり，その優秀性を確認し賞用している培地である。

被検薬剤： 第1表に示した4種の抗生物質であり，

第1表 試供抗生物質及びその生産菌

1)	Eurocidin (中沢等 1953)	*Streptomyces albireticuli*
2)	Trichomycin (細谷等 1952)	*St. hachijoensis*
3)	Candimycin (柴田等 1954)	*St. ehimeensis*
4)	Candimycin-Na (上記ナトリウム塩)	

その内 Eurocidin (E)，Candimycin (C) 及び Candimycin Na (C-Na) は共に武田薬工研究所に於て発見されたものであり，(中沢等，1953，1955，柴田等 1954) 直接研究所より製品の分与を受けた。

又 Trichomycin (細谷等，1952) (T) は三洋化学株式会社の製品であり，製品番号 "L-74 $_{Ae}$" 1900 u/mg である。

実験方法

次に述べる二つの方法により，増殖阻止作用及び直達作用(殺滅作用)を観察した。

増殖阻止作用の検定： 被検抗生物質を一定濃度加えた検定用培地にアメーバを移植し，その後，日を追つてその生育状況を観察する方法であり，主としてアメーバの増殖阻止作用を見る実験である。その順を追つて記載すると次の様になる。

SUEHISA TAKADA: On the *in vitro* antiamoebic actions of a few new antibiotics. (Department of Parasitology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University.)
* 現在所属 大阪市立大学医学部医動物学教室

1) 各抗生物質 5 mg を直接培地液を用いて 1000 倍溶液とし，これを原液とする*。

2) 上記の各原液を培地液により所要の濃度に稀釈し，その各々 4 cc 宛を 3 本の試験管に分注する。

3) 各試験管に米粉を 2〜3 白金耳宛加える。

4) 各試験管に前記アメーバ浮游液を約 0.2〜0.3 cc 宛移植する。

5) その後 37°C で培養し，各々 24 時間，48 時間，時には，72 時間後に，各試験管に於けるアメーバの生育状況を検査する。

アメーバの生死の判定は，その形態及び 1 %エオジン染色法により判定し，最終決定には，培養によつて判断した。

以上の各場合，薬剤の入らぬ対照実験を行うのは勿論であるが，各実験は，各アメーバ株及び各薬剤について，3 回乃至 6 回以上繰返して行い，その綜合成績を採つた。

直達作用の検定法： 各抗生物質の一定濃度により，アメーバがどの様な影響を受けるかを知る方法で，主として運動性及び生死を目標として 37°C の保温顕微鏡下に於て観察した。

先ずアメーバ浮游液の小量をスライドグラス上 2 カ所に採り一方を対照として培地液を同量加え，他方には，それと同量の各抗生物質の原液 (1000 倍液) を加えて，各々を 2000 倍となる様にし，両方共手早く混和し，その上にカバーグラスを載せ，周囲をワゼリン又は流動パラフィンで囲み水分の蒸発を防ぎ，時間を追つて観察した。

アメーバの生死に就ては，型の如く核の状況，細胞質中の顆粒の状態により推定すると共に，最終判定には，1 %エオジン液による判定法を用いた。

以上に述べた二種の方法により各抗生物質の作用を観察したが，之等と対照の意味に於て，同時に塩酸エメチン及びオーレオマイシン等を用いて適時並行実験を行つた。

* Trichomycin 及び C-Na は比較的楽に培地液に溶けるが，E 及び C は次の様な一定の手順を経ないと溶け難い。即ち，E は原末 5 mg を先ず N/10 HCl 1.5 cc に充分溶解し，次いで N/10 NaOH 1.5 cc をもつて徐々に混和しながら中性に戻し，その後培地液 2 cc を加えて全量 5 cc として原液とする。次ぎに C の場合は，原末 5 mg を 1 cc のエチレングリコールに充分溶解し，之に同じく培地液 4 cc を徐々に加えて，原液とする)

実験成績

I 増殖抑制作用

4 種の抗生物質についての成績は，各々第 2, 3, 4 表に別個に表示したが，4 種共ほぼ同様の成績を示した。

第 2 表 Trichomycin の抗アメーバ作用

アメーバ株	Y			H			W			U
濃度 ＼ 培養時間	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24
× 1000	−	−	−	−	−		−	−		−
1200	−	−	−	−	−		−	−		
1400	−	−	−	(±)	−		−	−		
1600	−	−	−	+	⊕	−	−	−		−
1800	−	−	−	+	±	−	−	−		
2000	(±)	−	−	++	+	−	(±)	−	−	−
2200	+	−	−	++	+	−	±	−	−	
2400	+	−	−	++			+	−	−	⊕
2600	+	−	−				+	−	−	+
3000	++	−	−	+	+					+
5000	++	−	−							
8000	++	(±)	−							
10000	++	+	±	++	++	+	++	(±)	−	
11000	++	++	±	++	++	+	++	±	−	
12000	++	++	±							
14000	++	++	+							
対照	++	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++

註 +・・1 視野 (×100) にアメーバ 1 コ以下
++・・ 〃 2 コ〜10 コ
+++・・ 〃 10 コ以上
−・・アメーバ陰性又は死滅
±・・アメーバ陰性又は陽性 (試験管に依り)

第 3 表 Eurocidin の抗アメーバ作用

アメーバ株	Y		H			W		U
濃度 ＼ 培養時間	24	48	24	48	72	24	48	24
× 10000	−		−	−	−	−	−	−
12000	−		(±)	(±)		−	−	
14000	−		±	±	±	±	−	−
16000	(±)		+	+	+	(±)	−	
18000	+		++	++	+	+	(±)	⊕
20000	+	(±)	++	++	++	++	+	+
22000	++	±	++	++	++			
24000	++	+						+
対照	++	+++	++	+++	++	++	+++	++

第4表 Candimycin 及びその Na 塩の抗アメーバ作用

薬物	Candimycin					Candimycin-Na						
アメーバ株	Y		W		U	Y		H		W		U
培養時間 / 濃度												
× 10000	−	−	−	−	−			±	−	−	−	−
12000								±	−	−	−	−
18000								(±)	−	−	−	
20000	−	−	(±)	−	−	−	−	−	−			−
22000										(±)	−	
25000			+	(±)	−			+	±	±	−	(±)
30000	±	−	+	+	+	⊕	−	++	−	+	−	+
35000	(±)	−				+	−	++	(±)			
40000	+	−	+	+	+	+	−	++	±			
80000	++	−										
100000	++	−	+	++		++	−			++	⊕	
120000	++	−				++	−			++	+	
140000	++	(±)	+	++		++	⊕					
対照	++	+++	++	+++	++	++	+++	++	+++	++	+++	++

即ちH株を除いた他の株に対しては，24時間観察で平均して各々，T····20,000倍，E····16,000倍，C····25,000倍，C-Na····22,000倍，の濃度又はそれ以上の高濃度を含む培地では，アメーバは死滅し認められず，48時間後では，各々T····80,000倍，E····18,000倍，C····140,000倍，C-Na····100,000倍程度で充分に増殖を抑制する様である。

各薬剤について24時間目と48時間後の成績は，かなり異なり，場合によつては，数倍の差が見られるが，今これをTを例に取つて説明すると，Y株の場合は24時間後では1:20,000以上の濃度ではすべて原虫が死滅して見られなくなるが，之は移植したアメーバが薬剤により殺滅されたものと考えられ，広義の Cidal 作用と見なされる。次いで，20,000倍から80,000倍の間では，24時間後に生き残つてはいるが，全く増殖が阻止されているか又は，一部増殖したものでも薬剤作用に抗し切れず，48時間後には遂に死滅するのであろうと考えられ，広義の Static 作用と思考される。以上の事は他の3種の抗生物質に就ても全く同様の事が云えるのであつて，増殖抑制作用の判定には，48時間目が適当と思われる。

ただH株に対する作用のみは，すべての場合他の株の例と比較して悪い成績を得た。同様の例は，ただ今回の

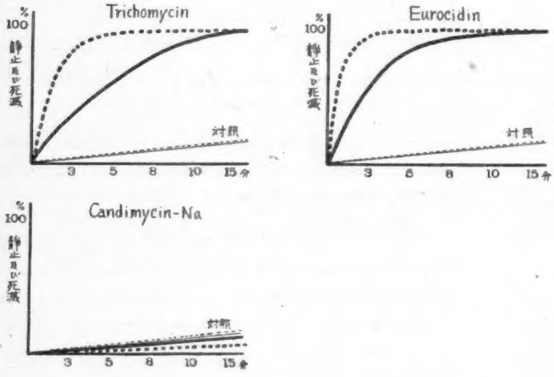
第5表 塩酸エメチン及びオーレオマイシンの抗アメーバ作用

薬物	塩酸エメチン						オーレオマイシン		
アメーバ株	Y			W			Y		
培養時間 / 濃度	24	48	72	24	48	72	24	48	72
× 1000	−	−	−	−	−	−			
1500				−	−	−			
2000	⊕	−	−	⊕	−	−			
2500					−	−			
4000	+	−	−	+	−	−	−	−	−
5000							−	−	−
8000	++	⊕	−	+	⊕	±			
10000	++	+	±	+	−	±	(±)	−	−
15000							+	⊕	−
20000							++	+	
25000							++	++	
対照	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++

場合のみならず，他の既知の抗アメーバ薬剤の効力検定を行つた時にも筆者の経験した事であり，非常に変異し易く，且株によつて，しばしば特異な性質を示す赤痢ア

第6表　4種の既知薬剤に依る抗アメーバ作用

薬物	Milibis			Ca-rbamisin			Emetine-HCl			Atabrine		
濃度＼培養時間	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
× 400	－	－	－									
500	－	－	－									
700	±	－	－									
800	±	－	－	－	－	－						
1000	+	±	－	±	－	－				±	－	－
1500							－	－	－	±	－	－
2000	++	－	－	±	－	－	±	－	－	+	±	－
2500							+	－	－	++	+	－
3000	++	－	－	++	－	－				++	+	－
4000	++	－	－	++	－	－						
4500	+++	±	－	+	±	－						
5000	+++	±	±	++	±	－						
6000	++	±	±	+	±	－						
対照	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++



第1図　各抗生物質の赤痢アメーバに対する直達作用

（註）1. ……………… 運動静止曲線
　　　　———————— 死滅曲線
　　2. 各抗生物質×2000 液使用
　　3. W株アメーバを使用
　　4. エチメンは作用を認めず

メーバにとつては，良く有り勝ちな事であり，その詳細な理由については，未だ不明である。しかし，第5，6表に示した，オーレオマイシン，エメチンをはじめ各種の既知の抗アメーバ剤の成績と比較して，4種共に遙かに優れた成績を示しており，かなりの抗アメーバ作用を持つているものと考えられる。

II　直達作用について

材料の都合上，被検薬剤としては，T, E, C-Na, 及び塩酸エメチンの4種を用い，試供アメーバとしては，最も運動の活潑であつたW株を用いた。薬剤の濃度，観察時間及び方法等にいまだ検討すべき点はあるが，第1図に示した如く，各薬剤のアメーバに対する直達作用の大略を知り得るものと思う。

即ち，4種の内 E，が最もその作用が強く，T が之に次ぎ，C-Na 及びエメチンは全くその作用を認めなかつた。E及びTの場合共に先ず運動静止が著明に起り，殆んどすべてのアメーバが1分乃至3分以内に静止し，之に続いて徐々に死滅原虫数が増加し，15分後にはすべてのアメーバは死滅した。之に反して C-Na の場合は，当初よりむしろ運動が活潑となる様であり，30分以内では，対照と大差を認めなかつた。又塩酸エメチンの場合も，一部運動が抑えられる様ではあつたが，明らかな原虫殺滅効果は認められなかつた。

総括考按

種々な，薬剤の抗アメーバ作用を検定する場合，他の細菌及び原虫に於ける時と同様に，*in vitro* の試験，動物実験，及び臨床実験の三者を併用する事が望ましいが，しかし最近の様に多くの新抗生物質及び各種の化学薬剤が続々と創製される場合，其の一つ一つに就て上述の3種の方法を行う事は，非常に難かしい事である。この点 *in vitro* の試験によつて，その抗アメーバ作用の大略を推定する方法が最も簡単であり又有力な方法でもある。ただしその場合注意しなければならぬ事は，赤痢アメーバの純培養は今の所不可能であり，その培養には必ず他の何等かの細菌又は共棲生物を必要とする。そのため特に抗菌作用の強い物質を検定する場合，その薬剤が果して直接アメーバに作用したものか又は，先ず共棲細菌に作用して，二次的にアメーバの発育を阻止したものであるかの判定がかなり面倒な問題となる。しかしながら，幸にして本実験に用いた4種の抗生物質は，一般に真性細菌に対しては全く無効であるか又は非常に作用が弱い事が確認されており，筆者の得た経験からも上述の様な憂は全く無いものと思われる。この様な物質を用いてその *in vitro* の抗アメーバ作用を知るには，今回筆者の行つた方法が最も適切であり，且有意義なものであると考える。

多くの菌体抽出物質がそうである様に，本実験に用いた4種の抗生物質も，毒性が強く，溶血作用もかなり強度であつて，*in vitro* の成績のみをもつて直ちに臨床的にも有効であると断定出来ないのは勿論であるが，しかし細谷等(1954)はすでにTを経口的に与えて人間のカンデイダ症 (Candida 症) 及びトリコモナス症に有効であつた事を報告されている様であり，その製剤方法等を改善し毒性を下げる事により，かなりの臨床効果が期待出来るのではないかと思う。この点将来の動物実験及び臨床試験等の成果を期待したい。

結　論

筆者は，先に猪木等の報告した全血加液体培地が，*in vitro* の抗アメーバ薬剤検定に好適のものであることを再確認すると共に，新抗生物質 Trichomycin, Eurocidin, Candimycin 及び Candimycin-Na が *in vitro* に於てかなりの抗アメーバ作用を示す事を認めた。その成績は次に示す通りである。

1. 増殖抑制作用は，各々T････80,000倍，E･･････18,000倍，C････140,000倍，C-Na････100,000倍以上の濃度で認められた。

2. 直達作用は，各抗生物質2000倍の濃度でT及びEは15分間で全アメーバを死滅せしめたが，C-Na は15分間観察して何等の作用をも認めなかつた。

終に御校閲を賜つた森下教授及び猪木教授に深謝すると共に，本研究に対し試料の分与を受けた，本学川俣教授，及び武田薬工研究所浜田学兄に対して心から感謝します。

（本論文要旨は第23回日本寄生虫学会総会に於て発表した）

追記： Trichomycin を提供された三洋化学株式会社は現在，藤沢薬品株式会社に合併し，共に Trichomycin の精製に努力しかなり高単位の製品の創製に成功している様である。

文　献

1) 浜田義雄(1655)：*Trichomonas vaginalis* の生物学的研究，(第6報)，Eurocidin の抗 *Trichomonas* 作用，阪大医誌，7(3)，237-245．—2) 細谷省吾(1953)：抗原虫抗カビ抗酵母性抗生物質トリコマイシン，薬学研究，25，435-441．—3) 細谷省吾・小松信彦・添田百枝・山口辰良・園田洋子(1952)：抗トリコモナス抗カビ作用を有する新抗生物質 Trichomycin に就て，J. Antibiotics. 5(10)，564-566．—4) 猪木正三・永井光・高田季久・北浦敏行(1950)：赤痢アメーバの培養に関する研究，第1報，余等の所謂全血加培地に就て，阪大医誌，2(2)，71-84．——5) Inoki, S., Nagai, A., Kitaura, T., Takada, S. and Nakabayashi, T., (1951)：Studies on the new culture methods of *Endamoeba histolytica*. Med. J. Osaka Univ., 2, 53-72. —6) Inoki, S., Takada, S. and Nakabayashi, T., (1953)：New culture methods for *Endamoeba histolytica*. Amer. J. Clin. Path., 23(2)，197-199．—7) 中沢鴻一・柴田元雄・田中一雄・三宅彰(1953)：放射状菌に関する研究新抗カビ抗酵母物質 Eurocidin について，第72回日本抗生物質学術協議会発表，28，7．24．—8) 中沢鴻一(1955)：放射状菌に関する研究 (I, II, III)，日本農芸化学会誌，29(8)，644-652．—9) 柴田元雄・徳井安雄・中沢鴻一・本症美喜雄(1954)：放射状菌に関する研究，新抗カビ抗酵母物質 Candimycin について，第79回日本抗生物質学術協議会発表，29．3．26．

Snmmary

It was examined about the antiamoebic actions of some new antibiotics by our Whole Blood Liquid medium. Consequently, four of those antibiotics, namely Trichomycin, Eurocidin, Candimycin and Candimycin-Na were found to be effective *in vitro*.

The results are summarized as follows;

1) The growth of *Entamoeba histolytica* was inhibited after 48 hrs. incubation in a concentration of 1; 80000 of Trichomycin, 1; 18000 of Eurocidin, 1; 140000 of Candimycin, and 1; 100000 of Candimycin-Na respectively.

2) Trichomycin and Eurocidin showed remarkable cidal action against *E. histolytica* within 15 min. after exposed on slides in a concentration of 1; 2000, while Candimycin-Na had no such action under the same condition.

Toxoplasma gondii の毒力に及ぼす各種動物血清の影響

新 井 博
慶応義塾大学医学部寄生虫学教室（主任 松林久吉教授）

（昭和32年1月18日受領）

緒 言

Toxoplasma gondii は，1908年に原虫として報告されて以来，広く自然界に認められ，虫体は人類を含む哺乳動物及鳥類に見出され，それ等は総て宿主と成り得る事は知られて居る。即ち，Sabin (1953) は，温血動物に対する Toxoplasma は，他の原虫と異つて宿主特異性の無い唯一の原虫であると述べている。

斯くして，温血動物である限り本原虫の実験的感染が全く不成功に終つたと云う報告は無いが，それらが宿主としての感受性の程度には，動物の種類によつてかなりの差異がある。そして，従来，各種動物の感染性の不一致は，宿主反応と株毒力の変化に基いたものであると述べられて居る (Jacobs L., 1953)。

Sabin & Feldman (1948) は，彼等の Dye-test を発見した際に，羊，牛，馬，犬，猿，家兎，ラッテ，そしてモルモット血清中には，試験管内で Accessory factor としての作用に不適当である "normal, heat-labil, anti-toxoplasma factor" の存在を暗示し，人間及びマウス血清中にはその因子が欠除する事を述べた。併し乍ら，之等の因子を示すいくらかの動物は，明らかに自然界に *Toxoplasma gondii* の宿主として知られて居り，そして，実験的に容易に感染し得る。その因子の本態は明らかでない。

Jacobs, Melton & Johns (1951) は，種々の液体中に於ける虫体の生残に関する実験を行い，血清を含む液体中で最も長時間生残し得る事を報告した。

そこで私は，虫体の生存に好影響を与える各種動物血清中に，虫体を浮遊せしめ，各血清の *Toxoplasma gondii* の毒力に及ぼす影響を観察し，血清中の毒力抑制因子の存在に就いての小実験を行つた。

HIROSHI ARAI: Influences of sera of various animals upon the infectivity of *Toxoplasma gondii* in mice. (Department of Parasitology, School of Medicine, Keio University, Tokyo)

実験材料及び方法

実験動物は，体重12〜15 gr の純系健康マウスを用いた。それ等は総て，抗体を保有しないものを必要とする為，50匹毎の各群より各5匹の血清に就いて Dye-test を行い，延30匹総て100％陰性の結果を得たので次後の実験に供した。

被検動物血清は，人，ラッテ，マウス，牛，馬，そして犬を用いた。人血清を除いて56°C 30′非働性とした。マウス血清は約10匹分を混合使用した。各血清は Dye-test 陰性を前以て確かめた。

虫体懸濁液作成に使用せる実験株は，株毒力を一定にする為，マウス腹腔継代3日後のRH株を用いた。腹腔貯溜液は，無菌0.9％食塩水で稀釈し，500 r. p. m. 3分間遠沈後，遊離の虫体を含む上清を標準の血球計算盤で算定し，被検動物血清と混合，虫体数 200×10^4/ml の50％血清食塩水懸濁液を作成し，同数の虫体を含む食塩水懸濁液を対照とした。その各々に，細菌抑制の為，水溶性 Pc G 2500 u/ml になる様混合した。以上の操作は虫体の温度影響を考慮して37°C の状態で行われた。

対照懸濁液は，37°C にて種々の異つた時間保存後，(2, 5, 8, 12, 15, 18, 20, 24, 29, そして48時間) 夫々，数匹のマウス腹腔中に0.5 ml 毎接種し，急性症状を呈する虫体の毒力保有の最大時間を観察した所（表1）に示す様に，保存時間の経過と共にマウスの生存日数は延長し，生残する様になり，24時間以後は全く虫体の毒力は消失し，虫体は生存しない様に見られた。2〜15，及20時間保存では，それを接種されたマウスは4〜8日目に100％死亡，18時間保存では5匹中4匹死亡し，24時間保存では16匹中6匹死亡した。それ等の生残マウスは，4週後も異常を示さなかつた。29時間保

第1表 0.9％無菌食塩水中に於ける *Toxoplasma gondii* の生存時間

虫体数＼37°C 100×10⁴＼保存時間	0	2	5	8	12	15	18	20	24				29	48
マウス／マウス 死亡数／接種数	3/3	3/3	3/3	5/5	5/5	5/5	4/5	5/5	0/5	2/3	3/3	1/5	1/5	0/5
接種マウス 平均生存日数	4.0	4.3	5 0	5 0	5.8	6.8	7.2	8.0		14.0	10.2	9.8	18.0	

第2表 *Toxoplasma gondii* の毒力に対する各種動物血清の影響(50 ％血清懸濁液のマウス接種実験)

37°C＼50％ 保存時間＼血清	マウス	人		ラッテ	馬		犬	牛
24 時間後	3/5 (9.0)	5/5 (6.0)	5/5 (6.0)	5/5 (6.0)	5/5 (6.8)	5/5 (7.2)	5/5 (7.0)	5/5 (8.6)
48 〃 〃	3/5 (14.0)	5/5 (13.4)	5/5 (12.0)	3/5 (13.0)	5/5 (9.2)	5/5 (8.6)	5/5 (9.6)	5/5 (9.6)
対照 24 〃	3/5 (9.6)	3/5 (11.7)	5/5 (10.6)	0/5	5/5 (9.4)	5/5 (9.6)	5/5 (9.8)	5/5 (8.6)

〔註〕 接種虫体数……100×10⁴
4/5 …………マウス5匹接種して4匹死亡
( )…………死亡マウス平均生存日数

存では僅かに1匹が18日目に死亡したが，虫体は腹水中にも，又，脳，肝及び脾臓の乳剤接種継代後も検出されなかつた。48時間保存では総て異常は認められなかつた。生残者に就いてのその後の Dye-test の結果では，18時間保存虫体接種マウスで，低価ではあるが4×を示したが，24, 29, 48時間保存では，抗体価の上昇は認められなかつた。

そこで，37°C に24時間保存の食塩水懸濁液を対照とした。

本実験は既述したように，血清と生理的食塩水とを等量に混じた液に，所定の虫体数を浮游させ37°C に保存し，24, 48時間後，対照は24時間後に，夫々，マウス腹腔に0.5 ml（虫体数100×10⁴）宛接種し，4週に亘りマウスの生死を観察した。

実験成績

50％血清懸濁液中に24時間保存した虫体を接種したマウスは，何れも対照に比して早期に発症死亡した。48時間保存では，マウス，ラッテ血清を用いた例で各々2匹宛4週後に至る迄生残したが，その他は対照と殆んど同時期，又は遅れて死亡した。対照は人，ラッテ例を除いて全例死亡した。

考　察

Toxoplasma の血清中に於ける生残実験に関しては，既述せる如く，Jacobs, Melton & Johns (1951) に依つて行われた。食塩水，10％血清，そして肉汁に浮游した虫体を接種すると，室温に於て10％血清食塩水中の虫体は長時間生残し，24時間に於てもマウスの感染を起す能力の大部分は尚失われなかつた。それに反して，他の二者中の虫体は短時間にて失われる事を報告した。本実験に於ても，37°C 保存で明らかに50％血清中の虫体は対照に比し多数生残し，毒力は保たれ，尚48時間に於ても対照に比し多少の毒力は低下するとは云え，マウスの大部分を発症し得た。24時間では勿論全く早期に発症した。この事は，動物血清は虫体の生存に関して，食塩水よりも適した環境を示すもので，毒力の減少は少く，虫体は長く生存し得ると考えられる。

Jacobs (1953) は，虫体に対する宿主の感受性の差異に就き種々の動物実験を行い，マウス，家兎，ハムスター，そしてモルモットは，ラッテより容易に急性感染を生じ易く，ラッテは脳以外の部位への接種で一寸した短かい熱性感染を起すに止まり，猿と犬は亜急性感染を起す。然し乍ら，比較的抵抗性のある宿主の組織から実験接種後比較的早期にも，又末期にも虫体は分離し得るから，Toxoplasma で温血動物の感染の不成功は無いと述べて居る。然るに，それ等自然界の動物間に於ける Dye-test 陽性率を考察するに明らかに著明の差が見られる。即ち，Feldman (1953) は，成人の20〜40％に血清学的に Subclinical Toxoplasmosis を見出し，又長谷川他 (1954) は，屠殺場で得た大動物の血清で Dye-test を行い，牛と馬は殆んど陰性であり，豚と緬山羊では比較的高率に抗体を保有し，そして我国に於ては欧米に比して低率ではあるが不顕性感染は広範囲に人及動物に拡

つて居ると述べ，人7.2％，牛2.8％，馬0％の陽性率を示すと報告している。Morris 他(1956)は，犬25％，又 Louise & Miller 他(1953)は，犬59％，猫34％そして家兎45％と可成り高率に抗体を認め，それ等よりの人体感染の注意を換起して居るが，牛は感染の頻度は少いと推論して居る。

以上の如くに，実験感染は可能でもその抗体保有率には可成りの差異を認められる。それ等の動物血清に就いて，若し抗体保有率の低い動物血清中に，Toxoplasma の毒力を何らかの方法で抑制すると思われる因子の存在が仮定されれば，それの50％血清懸濁液中で虫体の毒力は抑制され，マウスに急性感染を生ぜしむる能力の消失，又は減弱を示し，対照と同時期にマウスは死亡するか，又長く生存するであろう。それに反して抑制する因子の欠除する血清中の虫体は，48時間後に於ても，尚対照より早期に発症せしむる毒力を保有せねばならないであろうと思われる。

然るに，本実験に於ては，第2表に示す如くに多少の差は認められるが，48時間後のマウスの生存日数の著明の変動，殊に短縮は見られなかつた。之は各血清に共通に見るところである。

Toxoplasma gondii に対する宿主としての各種動物の感受性の差異，即ち，抗体保有率の差に関しては，本実験に於ては，血清中に抑制作用を現わす因子の存在は推察されず，少くともこの問題に関しては，血清は関与しない様に思われる。此の点に就ては，将来，血清以外にその意義を求めるべきであろう。

結　論

1. 37°C 保存で，生理的食塩水中の *Toxoplasma gondii* は比較的長時間マウスを発症せしむる能力を保有し，24時間後に於ても尚マウスを死に至らしめ得た。血清中ではそれ以上に生存した。

2. 動物血清中には，*Toxoplasma gondii* の生存を特に抑制する如き因子の存在は認められない様に思われる。Toxoplasma に対する感受性の異る数種の動物の血清中に Toxoplasma を浮游せしめて見ても，その生存時間に差は見られなかつた。

稿を終るに臨み，御懇篤なる御指導を賜わりました松林教授に深甚なる謝意を表します。

文　献

1) Feldman, H. A. (1953) : The clinical manifestations and laboratory diagnosis of Toxoplasmosis. Amer. J. Trop. Med Hyg., 2(3), 420-428. —2) 長谷川秀治他(1954) : Toxoplasma 症の研究 I. 普通人及び動物の Toxoplasma 抗体保有率について，日本細菌学雑誌，9(6)，455-458. —3) Jacobs, L. (1953) : The Biology of Toxoplasma. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 2(3), 365-389. —4) Jacobs, L., Johns, F. E. and Melton, M. L. (1951) : The Survival of *Toxoplasma gondii* in various fluides. J. Parasit., 38, 293-297. —5) Morris, J. A., Aulisio, C. G. and Mccown, J. M. : (1956) : Serological evidence of Toxoplasmosis in animals. J. of Inf. Dis., 98(1), 52-54. —6) Miller, L. T. and Feldman, H. A. (1953) : Incidence of antibodies for Toxoplasma among various animal species. J. Inf. Disease, 92(2), 118-120. —7) Sabin, A. B. (1953) : Toxoplasmosis. Current status and unsolved problems. Introductory remarks. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 2(3), 360-364. —8) Sabin, A. B. and Feldman, H. A. (1948) : Dyes as microchemical indicators of a new Immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (Toxoplasm). Science, 108, 660-663.

Summary

Most of the mammals are susceptible to the infection of *Toxoplasma gondii*. Some of them are highly suscestible and suffer severe illness ending in death. Others are more resistant and manifest only a transient or chronic infection and rarely die of the infection.

In the present study, normal sera of various mammals were taken and toxoplasms were immersed in these sera and were kept in 37°C incubator for various lapses of time. These organisms were then inoculated intraperitoneally into mice and their infectivity was investigated. The sera were taken from white rats, mice, cows, horses, dogs and man. It was ascertained beforehand that these sera had no antibody for dye-test. Control experiment was carried out with normal saline. After 24 hours' conservation in normal saline, toxoplasm lost its infectivity to mice.

In the experimental group in which toxoplasms were kept in sera, they retained their infectivity for longer period than in normal saline. Mice which were inoculated with toxoplasma kept in the serum for 24 hours were successfully infected in all cases and died after 4-5 days. Most of the mice inoculated with the organisms kept for 48 hours were also infected and died after 4-5 days. There was no difference between dach serum in its effect upon the toxoplasm.

肺吸虫症の皮内反応に関する研究 (III)

人体における Prausnitz-Küstner 反應の実験

横川 宗雄* 吉村 裕之**
千葉大学医学部医動物(寄生虫)学教室
大島 智夫*** 木畑美知江***
国立公衆衞生院衞生微生物学部寄生虫室

(昭和 32 年 2 月 21 日受領)

まえがき

Prausnitz 及び Küstner (1921) は，アレルギー状態にある人の血清中には健康人の皮膚に対して，局所的に過敏状態にさせる因子 (Skinsensitizing Antibody) があることを初めて明らかにした。即ちアレルギー状態にある人の血清の少量を健康人の皮内に注射し，24 時間後にその同一局所に抗原に該当するものを皮内注射すると直ちに注射部位の腫脹及び発赤がみられることを報告している。その後多くの学者により種々の疾患に対して本反応が追試されると共に種々の興味ある事実が明らかにされた。例えば，Coca 及び Grove (1925) 等は枯草熱，或いは喘息患者の血清中にある Skinsensitizing Antibody は，健康人の皮内に移されてからその局所に 4 週間以上存するが，これらの抗体は熱に対しては不安定で，56°C 30 分の加熱で破壊されること等を明らかにした。Lavine (1926)，Kuhn 及び Pappenheimer (1952) 等は Skin-sensitizing Antibody の Prausnitz-Küstner の方法による Titration の方法や，本抗体と抗原との中和現象等についても明かにした。

著者等は肺吸虫症患者の皮内に肺吸虫々体抽出液を少量注射した場合は，その注射部位に出来た膨疹は注射直後から腫脹し始め 7～15 分以内には極大に達するが，2～3 時間後には消失し，24 時間後には何等の痕跡も認めないことから，本皮内反応はアレルギー反応に属するものと考え，抗原及び抗体につき種々の角度から検討を加えて来たが，本実験では肺吸虫症患者の血清中に存すると考えられる Skin-sensitizing Antibody に関し，Praustnitz-Küstner 反応を人体に応用して，2～3 の興味ある知見を得たので報告する。

*MUNEO YOKOGAWA, **HIROYUKI YOSHIMURA, ***TOMOO OSHIMA & ***MICHIE KIHATA: Immunological study on paragonimiasis. III. Passive transfer (P-K) experiments in human-skins (*, **Department of Parasitology, School of Medicine, University of Chiba, ***Division of Parasitology, Institute of Public Health, Tokyo)

* 本研究は国立公衆衞生院勤務中に行った実験である。

実験材料

V. B. S. 抗原：

実験的に肺吸虫を感染させた犬或いは猫の肺臓からとり出した虫体を凍結乾燥し，エーテル溶性物質を除いた後，ヴェロナール緩衝生理食塩水の抽出液を抗原として用いた。濃度は虫体の乾燥重量に対して，1 : 10.000 の割に稀釈した。V. B. S. 抗原の作製法の詳細は横川等 (1955) により既に報告してある。

血 清：

患者血清：静岡県及び新潟県の肺吸虫症流行地で V. B. S. 抗原を用いて，集団的に皮内反応を実施し，陽性反応を呈したものでしかも喀痰或いは，糞便中に肺吸虫卵を証明した者の血清を用いた。すべての実験に同じ血清を用いるため，10 名の患者の血清をよく混合して冷凍しておいた。

正常血清：研究室の職員で，肺吸虫皮内反応陰性者 3 名の血清を混合し，冷凍しておいた。

被験者：

健康者で肺吸虫の皮内反応陰性の者，即ち著者等及び学生諸君に実施した。

患 者：

肺吸虫卵を喀痰或は糞便内に証明し，皮内反応陽性を示した者を用いた。

実験方法

肺吸虫の皮内反応

術式：前膊屈側部にツベルクリン用注射器で，V. B. S. 抗原 0.01 cc を皮内注射し，注射直後の膨疹の横

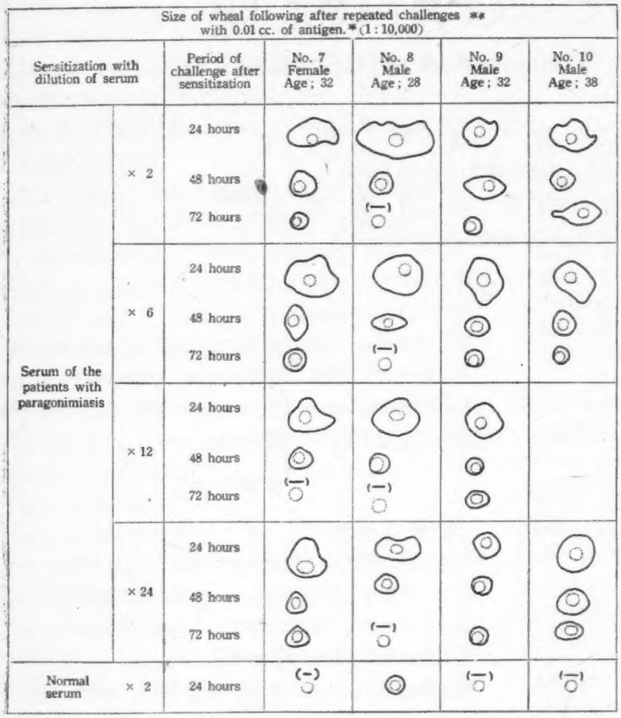


Fig. 1 Experiment I

Passive transfer (P-K) experiments in human skins by dilution methods of paragonimiasis patient's serum.

* Veronal buffered saline extract (V.B.S. Antigen) of adults of *Paragonimus westermani*.

** 0.01 cc of antigen injected repeatedly at the periods of 24 hours 48 hours and 72 hours in the same skin sites which sensitized with the dilutions of the serum.

—— Size of wheal 15 minutes after injection of antigen.

······ Size of wheal immediately after injection of antigen.

径及び縦径を測定し，（通常 3 mm〜4 mm の径の膨疹が生じる）15 分後に再び腫脹した膨疹の縦横径を測定する。

判定規準：注射直後の縦横径の平均を 15 分後の径の平均から差引いたもの（腫脹差）が 5 mm 以上ある場合を陽性，4 mm を擬陽性，3 mm 以下を陰性とする。尚膨疹の腫脹と共に発赤を伴うが，発赤の有無及び大きさは，判定の規準には用いない。

Prausnitz-Küstner 反応

術式：被験者の前膊屈側部に患者血清を 0.1 cc 正確に皮内注射してから，24 乃至 48 時間後に同局所に V. B. S. 抗原を 0.01 cc 皮内注射し，皮内反応の場合と同じく直後及び 15 分後の膨疹の径を測定し，その腫脹の形をも記録しておいた。

血清はすべて凍結保存してあつたのを室温で除々に融解した後使用した。非動化する場合はこれを 56°C の恒温水槽に 30 分浸漬した。対照としては常に正常血清を用いて反応の有無を観察した。

実験成績

(1) 抗原及び抗体の定量

a) 血清稀釈法（抗体稀釈法）

患者血清を生理食塩水にて 2 倍，6 倍，12 倍及び 24 倍に稀釈し，その各々を 0.1 cc 宛 4 名の健康人の前膊屈側部の皮内に注射してから 24 時間，48 時間及び 72 時間後の 3 回に亘つて，同局所に V. B. S. 抗原を反復皮内注射して，その反応の出現状況を観察したのが Fig. 1 の成績である。Fig. 1 の点線は抗原注射直後の膨疹の大きさを示し，実線は 15 分後の膨疹の形をそのまま示している。(−) は抗原注射後 15 分後には何等の反応も認められなかつた場合を示している。この実験によると 4 例とも，24 時間後の初回の抗原注射によつて，抗原注射局所の腫脹及び発赤が認められたが，24 倍稀釈の血清ではその腫脹の程度が弱かつた。48 時間後即ち第 2 回目の抗原注射に対しては 2 倍及び 6 倍稀釈血清では尚かなり強い反応を示しているものが多いが，12 倍及び 24 倍稀釈血清では，も早殆ど反応を現わさなかつた。更に 72 時間後即ち第 3 回目の抗原注射に対しては，12 倍及び 24 倍稀釈血清は勿論 2 倍及び 6 倍稀釈血清でも殆んど反応を示さなかつた。以上の事実から一定量の抗原に対しては，一定量の抗体が結合して，その結果一定の反応を現わすが，この際反応に関与しなかつた余剰

の抗体は次に注射された抗原と結合することが明らかにされた。

b) 抗原及び抗体(血清)稀釈法

本実験では抗体及び抗原の両者の量を変えて種々の組合せの場合の反応の出現状況を観察した。その成績は Fig. 2 に示す通りである。

即ち6倍，12倍，24倍，48倍及び76倍の5種稀釈血清の各々に対し1万倍，5万倍，10万倍及び20万倍に稀釈した抗原を注射してその反応をみた。1人の人について，この組合せの全部を実施するのは困難であつたので，5名の被験者の各々にはそれぞれ一定稀釈の血清を用いて，これに対する各種稀釈抗原の反応を観察した。その結果6倍，12倍，24倍及び48倍稀釈血清では1万倍及び5万倍の両種稀釈抗原により略ぼ同程度の反応を示しているが，96倍稀釈血清では前者の反応に比べて弱かつた。亦10万倍稀釈抗原に対しては，6倍の稀釈血清でも殆ど反応を示さなかつた。所が24時間後にすべての稀釈血清に対して1万倍の抗原を注射した場合は，最初10万倍及び20万倍の抗原に対して反応しなかつた局所に強い反応がみられた。このことからも一定の皮膚反応をあらわすには抗原と抗体との間に一定の量的関係があることが分かる。即ち，抗原価1：10.000乃至1：50.000と抗体価1：6乃至1：48の範囲では何れの組合せでも肉眼的に略ぼ一定の大きさの反応があらわれるが，抗原或いは抗体の何れかゞこれ以下の場合肉眼的には反応が充分に認められない事を示している。

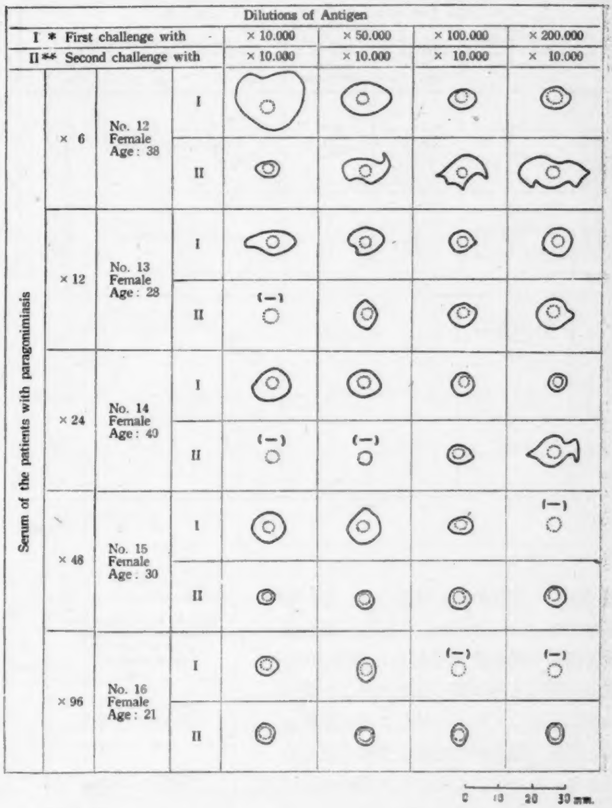


Fig. 2 Experiment II

Passive transfer (P-K) experiments in human skins by combined dilution methods of serum and antigen.

* .... Injected with each dilutions of antigen 24 hours after sensitization.

** .... Injected with 1 : 10.000 dilution of antigen 48 hours after sensitization in all the same skin sites.

(2) 抗体の耐熱性

即時性皮内反応を Raffel (1452)，Dubos (1952) 等は Arthus 型と Evanescent 型（蕁麻疹様皮膚反応）に分類し，両者の重要な相違の1つは前者の抗体は耐熱性であるが，後者のそれは 56°C 30分の加熱で破壊されると云つている。そこで6倍稀釈血清の非動化したものとしないものとの両者を5人の健康人の皮内に注射して，24時間後に抗原を注射した場合の反応を観察した。その結果は Fig. 3 に示してある如く非動化したものは何等の反応も示さないのに比べて，新鮮血清では強い反応を示している。このことから Raffel 及び Dubos の分類に従えば，肺吸虫の皮内反応は Evanescent Type（蕁麻疹皮膚反応）に属すると考えられる。

(3) 中和実験

Coca 及び Grove (1925) 等は血清と抗原を *in vitro*

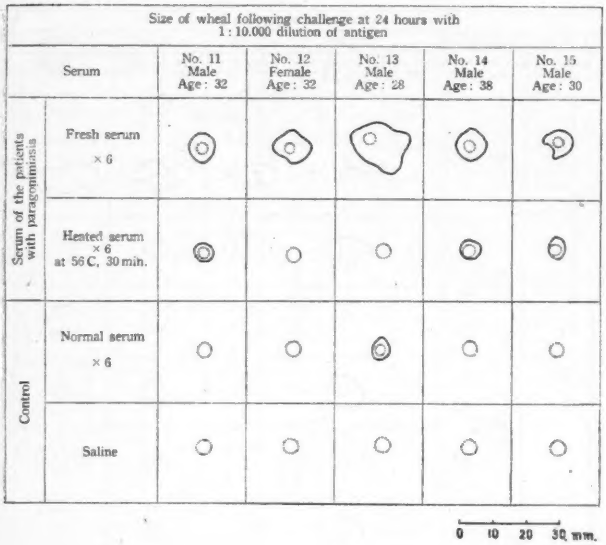


Fig. 3 Experiment III
Passive transfer (P-K) experiments in human skins.
(Effect of heating at 56°C for 30 minutes.)

で混和したものを健康人の皮内に注射した場合直ちに反応を示すが，24時間後に抗原を同局所に注射しても，も早反応は起らないことを報告しているし，最近 Kuhn (1955) 等も同様の現象を報告している。

そこで本実験では患者の稀釈血清と抗原（1万倍抗原）とを1cc 宛小試験管に入れてよく混和した後，30°C に4時間以上放置した後この0.1cc 宛を2人の健康人の皮内に注射し，直後及び15分後の反応を観察すると共に更に24時間後に同局所に1万倍抗原を注射して※反応の出現状況を観察した。その結果は Fig. 4 に示す如くである。即ち血清と抗原の混合液を注射した場合15分後には何れも略ぼ同じ程度のかなり著明な反応を示している。然しこれは正常血清と抗原の混合液でも同じ程度の反応を示しているので，Coca 及び Grove の云う如く混合液注射直後の特異的反応とは考えられない。然し24時間後に再び同局所に抗原を注射しても殆んど反応を示さなかつた。即ち抗原と抗体の中和の結果と考えられるが，この中和現象が既に *in vitro* で起つたのか，或いはこの混合液が体内に入つて組織内で中和されたのか

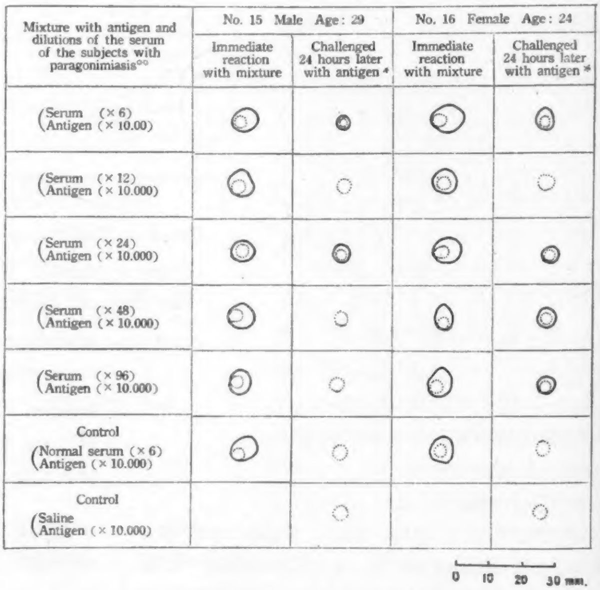


Fig. 4 Experiment IV.
Passive transfer (P-K) experiments in human skins.
Neutralization of skinsensitization antibody by antigen.*

* .... Skin sites were injected with mixture of antigen (X 10.000) and patient's serum as indicated. Skin reactions were recorded immediatly and 15 minutes later. 24 hours later the same sites were injected with 0.01 cc of antigen (X 10.000) No reaction was appeared.

** .... Equal amount of dilutions of serum and antigen was mixed.

は明らかでないので次の実験を行つた。(尚抗原と抗体を種々の割合に混合した何れの場合にも沈降物の形成は認められなかつた)。

即ち上述の混合液と，抗原のみの両者を肺吸虫症患者に皮内注射して，その反応の出現状況を比較してみた。その結果は Fig. 5 の如く，混合液の注射によつても，抗原のみの場合と同じ様に注射部の腫脹がみられた。従つて著者等の場合は血清と抗原とを混合した場合，抗体は試験管内では中和されておらず，抗原がそのまゝ残つていたと考えられる。この場合混合液が皮内に注射された後組織内で抗体と抗原の中和現象がおこつたと考えるのが至当であろう。

(4) 肺吸虫症患者の同一局所の皮内に抗原を反復注射した場合の実験

肺吸虫症患者の血清中の抗体が，健康人の皮膚局所に移された場合，当該抗原により抗体が消費されてしまえば，更にその部に抗原を注射しても，も早反応はあらわれないことが上述の実験により明らかになつた。然し常に血液中に抗体を有すると考えられる患者の同一局所の皮内に抗原を反復注射した場合については未だ明らかでないので実験してみた。即ち喀痰中に多数の肺吸虫卵を証明している2名の肺吸虫症患者の両側の前膊屈側部の同一局所の皮内に V. B. S. 抗原を 0.01 cc 宛24時間毎に4回反復注射した結果についてその成績を示したのが Fig. 6 である。これによると，初回，24時間後，48時間後及び72時間後と4回の皮内注射では，何れも陽性反応を呈した。然し，第1例の左側前膊部では72時間後の第4回目の抗原注射では稍ゝ反応が小さくなつており右側では48時間後及び72時間後の第3回目及び第4回目の反応は初回の反応より稍ゝ弱い反応を呈している。第2例では左右両側とも72時間後の第4回目の反応でも殆んど初回の反応と著しい差は認められなかつた。従つて患者の場合は，多少の個人差或いは部位的の差はあるにしても，皮膚局所の抗体は恐らくは血中の抗体によつて絶えず補給されているものと想像される。

(5) 肺吸虫抗原に対し過敏状態にある人に抗原を反復注射した場合の実験

本例は以上の実験中に偶然に発見された例でその本態

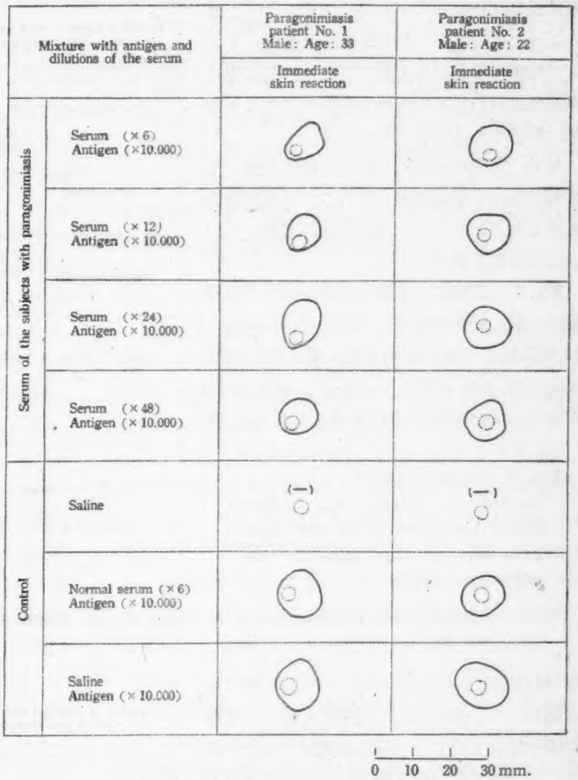


Fig. 5 Experiment V.
Immediate reaction to mixture with antigen and patient's serum in paragonimiasis patient's skins.

については未だ明らかでないが，興味あると思われる例なので報告する。即ち本例は著者等の研究室で，数年来肺吸虫の研究に従事して居り，特に肺吸虫抗原作製の任に当つていた。筆者等はこの数年来常に年間2〜3回は V. B. S. 抗原を皮内注射してその反応の有無を調べて来たが，本年末迄は陽性を呈した者は1人もなかつた。所が今年始め (1956年2月) に皮内反応を行つた所，1人だけ強い陽性反応を呈しているのに気がついたので驚いて，約2週間の間隔をおいて反復皮内反応を実施してみたが，矢張り常に陽性反応を呈した。然し本人は何等肺吸虫症の自覚症状はなく，又虫卵も喀痰及び糞便よりは見出されないし，X線所見によつても，胸部に病変はみられなかつた。従つて本例では肺吸虫症に感染する機会は仕事の性質からは絶無とは云えないが，感染していると云う確実な証拠はなかつた。たゞ抗原を作製する仕

事に長期間従事していた為に抗原により，感作されたのではないかと想像されるが，これとて確実な根拠がある訳ではない。然し兎に角突然肺吸虫症の皮内反応が陽転したことは甚だ興味のある問題と思われる。

なお，本例の血清について，肺吸虫症の補体結合反応を数回反復して行つたが常に陰性を示したことからも，肺吸虫症に感染しているとは考えられない。

Fig. 7 に示す如く本例の左右両側の前膊屈側部の同一局所の皮内に抗原を 0.01 cc 宛，24 時間毎に反復注射した所，第 1 回の抗原注射では，何れも陽性反応を呈したが，24 時間後及び 48 時間後に抗原を注射しても何 ※

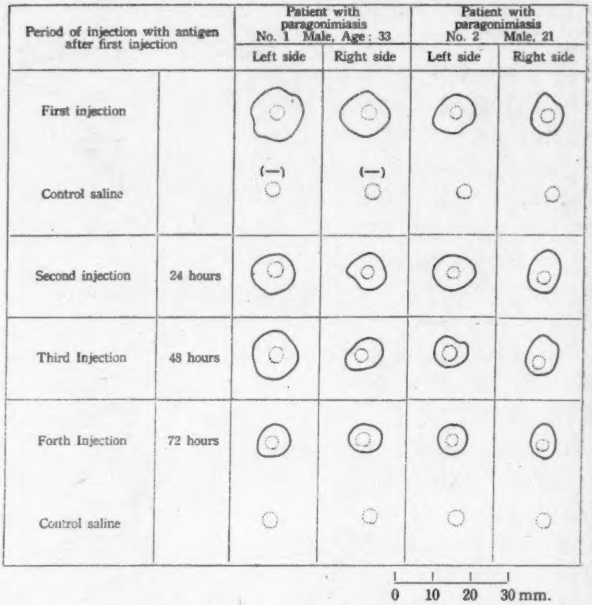


Fig. 6 Experiment VI.
Immediate reaction to antigen injected repeatedly at the same skin site of the subjects with paragonimiasis.

* .... Antigen were injected every 24 hours at the same skin site. 1 : 10.000 dilution of antigen was used.

※ 等の反応も示さなかつた。そこで更に 8 日間おいて，抗原を同一局所に注射した所再び陽性反応を呈した。即ち本実験では先の患者について反復皮内反応を行つた成績と著しく異つているが，その理由については未だ明らかでない。只 Freund 等 (1930) は組織中の抗体は臓器の血液に由来するものでなく恐らく血管外の部分から来るものであろうと述べているが，本例の如く，肺吸虫症に感染しているのではなく，何等かの原因で，感作された状態にある場合は non-Precipitating Antibody は血中には少く，他の部分から由来するのかも知れない。

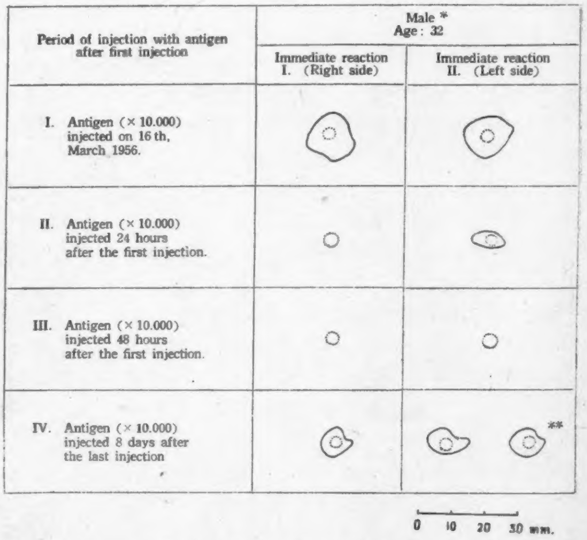


Fig. 7 Experiment VII.
Immediate reaction to antigens injected repeatedly in the same site of sensitive human skin.*

* .... This individual has been working on preparing the antigen of Paragonimus for about 5 years. Immediate skin reaction became positive on 2nd Feb. 1956.
Egg of Paragonimus; negative in sputum and stools.
C.F.-Test for paragonimiasis: negative. X-Ray findings of the lungs.: negative.

** .... Antigen injected another skin site.

考　察

肺吸虫症患者にみられる皮膚反応は，極く微量の当該抗原即ち肺吸虫成虫より作製した1万倍抗原の0.01乃至0.02 cc を皮内に注射するとその部に数分乃至10数分以内に限局性の浮腫がおこるが2乃至3時間経過するとその腫脹は消失し24時間後にも何等のこんせきを残さないことは既に明らかにされた所である。然しかゝる一過性の反応に対しても，これ迄は Arthus 型の反応と考える者が多い。然し著者等は本反応を種々の角度から検討した結果，Dubos (1952)，Raffel (1953) 等の分類に従つて，蕁麻疹様皮膚反応 (Evanescent cutaneous Reaction) に属すべきもので，Arthus 反応とは異るものとするのが妥当と考える。即ち Arthus Type と Evanescent Type の類似点としては Passive-transfer が可能であること，及び除感作が容易であること等が挙げられている。然し両者の相違点としては Evanescent Type の方は Arthus Type のものに比べて抗原の量はより少量で，反応の発現の速度がより早く数分内に発現し，消失もより早く然も局所の組織障碍を来さないことなどが挙げられている。又 Evanescent Type に関与する抗体は，heat-labile で，血中の沈降素含有量と関係がないこと，及び placenta を通さないと云われている。更に又その発現機構に関しては Evanescent Type では抗原と抗体が組織を介して反応してそこにヒスタミン様物質が生成された結果おこるもので，抗原と抗体が直接結びついて沈降物の如きものは形成されないと云われているが，この機序に関しては未だ明らかにされていない。

Coca 及び Grove (1952) 及びその他は，かゝる抗体は試験管内並に組織内で抗原を中和するが，沈降反応も補体結合反応も証明されない。又この反応はすべてのアレルギー疾患において陽性な訳ではないと云つている。

著者等の実験では，肺吸虫症患者の血清中には Prausnitz-Küstner 反応によつて殆ど100%にかゝる抗体を証明することが出来，又かゝる抗体は56°C 30分の加熱ではその性質を失うことも証明し得た。更に試験管内では中和の現象は認められなかつたが，抗原と血清との混合液を皮内に注射した場合組織内で中和がおこることを証明出来た。然し抗原と血清とを如何なる割合に混じても沈降物の形成は認められなかつた。以上の事実からも本反応が Arthus 型の反応と異ることは明らかにされたと思われる。然し，横川及び粟野等(1955)により明らかにされた如く肺吸虫症患者の血清中にはかゝる抗体の他に，補体結合反応の抗体があることも証明されたが，皮内反応の抗体及び沈降反応及び補体結合反応の抗体の関係については又改めて別に報告する考えである。

尚他のアレルギー性疾患と比較して肺吸虫患者の血清には殆んど100%にかゝる non-Precipitating Antibody が強く証明されることは，特に興味ある点と思われる。今後尚本抗体の本態に関し，更には他の血清学的反応における抗体との関係を追求したいと考えている。

結　論

肺吸虫症患者の血清を用いて健康人に Prusnitz-Küstner の実験を行つた結果次の事が明らかとなつた。

1) 肺吸虫症患者の血清中の抗体は健康人の皮膚に Passive-transfer が可能である。

2) 健康人の皮内に2倍，6倍，12倍及び24倍の各種稀釈濃度の患者血清を注射した後24時間後に同局所に0.01 cc の1万倍肺吸虫抗原を皮内注射すると，12倍稀釈血清迄は略ぼ同程度の腫脹及び発赤があらわれたが，24倍稀釈血清で感作した局所では，稍ゝ腫脹が小さかつた。更に48時間後及び72時間後に同一局所に1万倍抗原を反復注射した場合には次第に反応が弱くなり消失していくことが明らかにされた。又抗原及び抗体の両者の稀釈法を用いて同様な実験をした結果，本即時反応には抗原と抗体との間に一定の量的結合関係があり余剰抗体は更に新しく注入された抗原と結合することが明らかにされた。

3) 本抗体は56°C 30分で破壊される。

4) 抗原と抗体とを試験管内で混合した場合沈降物の形成はみられないが，この混合液を健康人の皮内に移植した後に中和現象のおこることが明かにされた。このことは，混合液を健康人の皮内に移植した後，24時間後同局所に抗原を注射しても反応はおこらないが，肺吸虫症患者の皮内に同混合液を注射した場合は即時性皮膚反応があらわれることから明らかである。

5) 患者の同一局所の皮内に抗原を反復注射した実験では常に同程度の陽性反応を呈することが明らかとなつた。

6) 然し本皮内反応に対して過敏状態にあると思われる1例に反復皮内反応を行つたところ，最初の皮内反応では強陽性を呈したが，次の抗原注射では陰性で，8日後に又再び陽性反応のあらわれることを知つた。

以上の諸事実から，著者等は肺吸虫症の皮内反応は即

時性反応の中 Dubos 等の分類法に従つて Evanescent Type に属すべきものと考える。

文　献

1) 安東洪次 (1953)：感染と免疫, 丸善. —2) Boyd, W. C. (1956)：Fundamentals of Immunology, Interscience Publishers, New York. —3) Chaffee. E. F., Bauman, P. M. and Shapiro, J. J. (1654)：Diagnosis of Schistosomiasis by Complement-fixation. Amer. Jour. Trop. Med., Hyg., 3(3), 905-913. —4) Kabat, E. A. and Mayer, M. M. (1950)：Experimental Immunochemistry. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois. —5) Kuhns, W. J. and Pappenheimer, A. M. (1952)：Immunological studies of Antitoxin produced in normal and allergic individuals hyperimmunized with Diphtheria Toxoid. I. Relationship of Skin Sensitibility to purified Diphtheria Toxoid to the Presence of Circulating non-Precipitating Antitoxin. Jour. Exp. Med.,95 (4), 362-374. —6) Kuhns, W. J. and Pappenheimer, A. M. (1952)：II. A Comparison between the Immunological Properties of Precipitating and non-Precipitating (Skin-Sensitizing) Antitoxin. Jour, Exp. Med., 95 (4), 375-392. —7) Kuhns, W. J. (1953)：III. Studies of the Passive Arthus Reaction in Guinea pigs using Human Precipitating and non-Precipitating Diphtheria Antitoxin. Jour. Exp. Med., 97(6), 903-910. —8) 横川宗雄・大島智夫・勝呂毅 (1955)：肺吸虫症の皮内反応（I）及び(II), 寄生虫学雑誌, 4(3), 276-282, 及び 283-289. —9) 横川宗雄・粟野林 (1955)：肺吸虫の補体結合反応, 日本医事新報, 1703, 27-35.

Summary

The authors reported in the previous paper that the antibodies in the serum of paragonimiasis patients were always demonstrated by passive transfer (P-K Reaction) in normal human skins.

The present paper describes in some detail the characteristics of skinsensitizing antibody in the serum of the subjects with paragonimiasis by passive-transfer (P-K) experiments in normal human skins.

1) In experiment I, 0.1 cc of dilutions-(× 2, × 6, × 12, and × 24) of the serum of the subjects with paragonimiasis was injected into a series of skin site of four normal individuals.

The smallest quantity of skin-sensitizing antibody in the serum required to sensitize atlocal skin in the normal individuals was determined by challenging the sites 24 hours, 48 hours, and 72 hours later repeatedly with 0.01 cc of 1 : 10.000 dilution of the antigen. The results are shown in Fig. 1.

2) In experiment II, both the serum dilution method and the antigen dilution method were used. 0.1 cc of the dilutions-(× 6, × 12, × 24, × 48 and × 96) of the donor's serum was injected respectively into the skin sites of five normal individuals.

0.01 cc of the dilutions, (1 : 10,000, 1 : 50,000, 1 : 10.000 and 1 : 200.000) of antigen was injected 24 hours later in the each sites of the each individuals. 0.01 cc of 1 : 10.000 dilution of antigen was injected 24 hours after first challenge with the dilutions of the antigen into all the same skin sites of the individuals. The results were shown in Fig. 2.

3) In experiment III, the patients serum heated at 56°C for 30 minutes was used for sensitization. It can be seen in Fig. 3 that exposure of the serum to 56° for 30 minutes results in a loss of its capacity to sensitize the skin of 5 normal individuals to subsequent challenge with 0.01 cc of 1 : 10.000 dilution of antigen.

4) In experiment IV, the neutralization technic was used. The chosen dilutions of the serum (× 6, × 12, × 24, × 48 and × 96) were mixed with equal volumes of 1 : 10.000 dilution of antigen. 0.1 cc of the mixture was injected into each skin site of two normal individuals. Wheal reaction were measured immediately and 15 minutes after injection.

24 hours later the same sites were challenged with 0.01cc of 1 : 10.000 dilution of antigen. No reaction was appeared at those sites prepared with the mixture as shown in Fig. 4.

5) In experiment V, 0.1 cc of the mixture, prepared in experiment IV, was injected into each skin site of two patients with paragonimiasis. Immediate reaction was seen by injection of mixture but no reaction was seen with injection of saline as control. This is shown in Fig. 5

6) In experiment VI, 0.01 cc of 1 : 10.000 dilution of antigen was injected repeatedly in to the same skin site of the two patients with paragonmiasis, after the intervals of 24 hours, 48 hours and 72 hours. Immediate reactions were seen at the same skin site even when the fourth injection of antigen was made as shown in Fig. 6.

7) In experiment VII, 0.01 cc of 1:10.000 dilution of antigen injected repeatedly into the same skin site of the both side of fore arms of the sensitive individual after the intervals of 24 hours, 48 hours and 8 days. Immediate skin reaction appeared at the first injection with antigen but no reaction appeared at second and third injection with antigen. Immediate wheal reaction was seen again at the same skin site when the antigen was injected at the interval of 8 days after last injection as shown in Fig. 7.

The antigen (Veronal Buffered Salin Extact) used in this experiments was prepared by the method of Chaffee *et al.* (1954) from adults of *Paragonimus westermani* which were removed from the lung of the experimentally infected dogs.

寄贈文献目録 (9)

363. 岡村一郎, 寺尾知道(1953): *Trichomonas vaginalis* の培地について, 医学と生物学, 21(6), 260〜263
364. 岡村一郎, 橋本典秋, 玉置馨(1952): 宮崎県下の肺吸虫濃厚感染地帯 予報 その 1. 医学と生物学 23(3), 79〜81.
365. 梶原誠一, 橋本典秋(1952): 蛔虫体腔液の Paper-chromatograph 医学と生物学, 25(3), 108〜110
366. 岡村一郎, 三浦守(1951): 日本住血吸虫セルカリア毒腺の顕微化学的研究, 医学と生物学, 21(3), 124〜126.
367. 三浦守, 梶原誠一, 村上和充, 松下文雄, 羽田野邦和, 中島典雄(1955): 熊本県産蟹類に於ける肺吸虫メタセルカリアの寄生状況並に其の季節的消長, 熊本医学会雑誌, 29(1), 77〜81.
368. 三浦守(1955): 日本住血吸虫の組織化学的研究, 第1篇〜第3篇, 熊本医学会雑誌, 29(1), 85〜109.
369. 梶原誠一, 三浦守, 楢崎直次郎(1955): 実験的蛔虫症に於ける血液アミノ酸量の変動に就て, (附赤血球, 白血球, 血色素に就て), 熊本医学会雑誌, 29(2), 123〜125.
370. 梶原誠一, 斎藤文男, 楢崎直次郎(1955): 鉤虫卵子発育に及ぼす pH の影響, 熊本医学会雑誌, 29(3), 253〜255.
371. 丸田繁(1955): 感光色素による寄生虫卵の染色 第1篇 感光色素について, 熊本医学雑誌, 29 (補冊1), 53〜59.
372. 丸田繁(1955): 感光色素による寄生虫卵の染色 第2篇 感光素による加熱死滅鉤虫卵の染色, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 60〜61.
373. 丸田繁(1955): 感光色素による寄生虫卵の染色 第3篇 感光色素の寄生虫卵染色性に及ぼす酸・アルカリの影響, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 62〜64.
374. 丸田繁(1955): 感光色素による寄生虫卵の染色 第4篇 感光色素による犬鉤虫卵の染色, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 65〜69.
375. 丸田繁(1955): 感光色素による寄生虫卵の染色 第5篇 感光色素による蛔虫卵の染色, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 70〜72.
376. 丸田繁(1955): 感光色素による寄生虫卵の染色 第6篇, 感光色素の寄生虫卵染色性に及ぼすアンチフォルミン及び濃厚食塩水の影響, 熊本医学会雑誌 29(補冊1), 73〜74.
377. 丸田繁(1955): 感光色素による寄生虫卵の染色 第7篇 感光色素による蛔虫子宮内生卵の染色, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 75〜80.
378. 梶原誠一(1955): 実験的寄生虫症眼球の病理組織学的研究, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 85〜95.
379. 梶原誠一(1955): 実験的寄生虫症眼球の病理組織学的研究, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 95〜106.
380. 松下文雄, 加藤敬吉, 菅原謙次, 鶴田貢, (1955): マンソン住血吸虫卵の形態学的観察, 熊本医学会雑誌, 29(補冊1), 145〜149.

蛔虫子宮内卵の発育及びその抵抗性に関する研究

第3報 豚蛔虫子宮内各部位卵の薬剤に対する抵抗性の比較

斎藤敏昭
国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和32年2月25日受領)

緒言

蛔虫卵殺滅のための殺卵剤としては，現在までに実用的に希望をもちうるものとして，二硫化炭素，亜硝酸ソーダ，揮発性芥子油等があげられている。二硫化炭素における研究では，最初に松村等(1952)は，脂肪族化合物中，特に二硫化炭素は量産されており，価格も安く（1キロ150円位）かつ1000倍稀釈，5°C 7日間屎尿浸漬で蛔虫卵を100％死滅させるので実用に適すとなし，又実際に屎尿の二硫化炭素処理を施行することによつて蛔虫の伝染率を著しく低下せしめたと報告した。其の後諸家の追試もある(児玉等，1955，小宮等，1955)。

また亜硝酸ソーダについては，長野等(1952)は屎尿中における蛔虫卵の死滅に関連して屎尿中において生成を予測される諸物質について殺卵作用を検討し，その主因をなすのは亜硝酸であると結論した。但しこの場合メディウムがアルカリ性の時にはその作用効果は著しく減弱する。

実際に亜硝酸を2000分の1の割合で尿との水溶液中に混入攪拌しておくときは液の蛔虫卵は2週間で悉く死滅するといわれておるが，屎尿混合物中では蛔虫卵が全く死滅するのは亜硝酸ソーダ濃度500倍位にその効果が低下する(小宮義孝等，1956)。

芥子油が蛔虫卵殺滅効果ある事は国井等(1953)が初めて報告したところであるが，氏等は芥子油を蛔虫卵に直接浸漬した場合には，その虫卵発育の阻害有効濃度は10^{-4}～2×10^{-4}，26～28°Cであり，発育段階の進んだ虫卵も10^{-4}濃度においては，仔虫を形成する事はないとした。但し，メヂウムが屎尿混合物の場合には，その殺卵効果は著しく低下するという。

私は，蛔虫子宮各部位内卵の抵抗性に関する研究として，既報第1，2報につづいて，豚蛔虫子宮各部位内卵がこれらの薬剤に対して示す抵抗力か知るために，豚蛔虫の子宮体の各部位内卵を所定期間これらの薬剤に浸漬直後瓦培養を行い，その発育経過を追跡して見た。以下はその成績についての報告である。

TOSHIAKI SAITO: Study on the development and resistance of ascaris eggs from the uterus of *Ascaris suilla* Dui. (swine ascaris). III, The comparative study on the resistance of pig ascaris eggs from various part of the uterus against various ovocidal preparations. (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo).

実験材料及び方法

1. 実験材料：芝浦屠殺場より採取した豚蛔虫体♀の子宮内卵を使用した。

2. 使用薬及びその濃度（容量比）：薬剤としては，すでにそれが殺卵効果のある事の知られている二硫化炭素，亜硝酸ソーダおよび揮発性芥子油（乳化剤としてエマルゲンを4分の1の割合で加えた）を用いた。各種薬剤の濃度はそれぞれ，二硫化炭素1000×，2500×，5000×，10000×，20000×，亜硝酸ソーダ1000×，2000×，4000×，8000×，16000×，及び芥子油1000×，2500×，5000×，10000×，20000×とした。但し，亜硝酸ソーダの場合にあつては，その殺卵効果は酸性メヂウムを必要とするので(児玉・原田，1952)，各浸漬液中に0.1％の割合になるように塩酸を加え酸性となし，二硫化炭素の場合には均等化のために1：4の比にエマルゲンを加えて乳化したものを使用した(和泉・柳沢，1952)。なお，此の場合対照メヂウムとしては，水道水の外にエマルゲン250×及び0.1％塩酸を使用した。

3. 虫卵の薬剤えの浸漬：容器としては，200 cc 三角コルベン用を用い，薬剤又は対照液を約50 cc 入れ，その中に約耳匙8杯分の豚蛔虫卵を入れ，良く攪拌し，セロフアン紙にて口を密閉し一定温度下に所定期間放置した。尚，虫卵は豚蛔虫体30条より得た子宮を取出し，

子宮長を測定し，その各々につき充分に水洗を行つてからこれを各 10 等分し，その上方より 3/10 の部位（子宮上部位*）5/10 部位（同中位）および 10/10 部位（同下部）中の虫卵を取つた。

4. 浸漬温度および浸漬期間： 薬剤への浸漬温度は 28°C，浸漬期間は 2 週間で行つた。

5. 浸漬後に培養： コルベン中の各内容物から，約 1 cc を取り尿コップに入れ，これに水道水を加えて，3 回自然沈澱後残渣を 2 回遠心沈澱せし各残渣につき，28°C において 2 %ホルマリン水加瓦培養を行つた。培養後の観察時期は，培養後，8 週間とした。なお念のため培養直後の成績は何れの場合を問わず一応観察した。

6. 観察方法： 観察方法としては，所定期間培養後各標本につき虫卵各々 100 個を鏡見してその発育，変性状態を検した。発育の指標としては，仔虫形成率を使用した（斎藤，1954）。なお変性卵は A），必ずしも生死の明かならざるもののうちに，1）単細胞変性像，2）多細胞変性像を現わすものの者を包括し，B）死卵と判定しうるものとして，単細胞顆粒化像および崩壊像を包括せしめた。なお，右 A）の単細胞変性像の内訳は柳沢（1955）の変性卵分類にもとづき，胞形成，萎縮，転位，萎縮転位，変形透明化等を含み，多細胞変性像としては，多細胞分裂異常，多細胞分割球及び胚の変性等を包む。整理の方法に関しては，前報（斎藤，1955）と同様である。

実験成績

1. 二硫化炭素液接触時の成績

イ 仔虫形成率について

先ず子宮各部位について見ると（第 1 図，第 1 表参照）子宮上部内卵，中部内卵，下部内卵と次第に卵の位置が下降するにしたがつて，漸次仔虫形成率は増加を示しておるが，その成績は子宮下部内卵，4000 倍以上 8 週間培養のものを除いては総じて何れも対照に比して劣つているようである。

次に，薬剤稀釈濃度について見ると，子宮上部内卵，中部内卵，下部内卵すべての子宮部位卵において薬剤稀釈倍数が漸次増加するに従つて次第に仔虫形成率は上昇を示していることがわかる。次に観察時期について見ると，浸漬直後に比して培養後 8 週間のものにあつては仔

* 子宮上部として上より 3/10 位をとつたのは，それれより上方は第 1 報の結果より発育しない事が確かめらていたからである。

第 1 表 二硫化炭素 浸漬温度 28°C
2 週間浸漬後の豚蛔虫子宮部位別による
発育分類卵比較表 *

子宮部位	観察時期	稀釈濃度	正常単	分割球	桑椹	蝌蚪	仔虫	変性卵分類 A）1	2）	B）
子宮上部	培養直後	1000×	59	0	0	0	0	41	0	0
		2500×	21	0	0	0	0	79	0	0
		5000×	12	0	0	0	0	88	0	0
		10000×	14	0	4	6	0	76	0	0
		20000×	22	6	63	7	2	0	0	0
		対照	21	8	54	13	4	0	0	0
子宮上部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	0	0	100
		2500×	0	0	0	0	0	0	0	100
		5000×	0	0	0	0	2	0	0	98
		10000×	0	0	0	0	12	0	0	88
		20000×	0	0	0	0	66	11	0	23
		対照	0	0	0	0	97	3	0	0
子宮中部	培養直後	1000×	3	0	0	0	0	97	0	0
		2500×	6	0	0	0	0	94	0	0
		5000×	48	24	0	0	0	28	0	0
		10000×	37	41	8	9	2	3	0	0
		20000×	21	28	27	19	5	0	0	0
		対照	2	13	17	42	26	0	0	0
子宮中部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	0	0	100
		2500×	0	0	0	0	4	0	0	96
		5000×	0	0	0	0	53	1	0	46
		10000×	0	0	0	0	97	0	0	3
		20000×	0	0	0	0	95	1	0	4
		対照	0	0	0	0	98	2	0	0
子宮下部	培養直後	1000×	31	0	0	0	0	69	0	0
		2500×	26	11	0	0	0	63	0	0
		5000×	45	53	0	0	2	0	0	0
		10000×	33	39	21	2	5	0	0	0
		20000×	0	18	54	22	6	0	0	0
		対照	0	8	6	11	75	0	0	0
子宮下部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	14	0	86
		2500×	0	0	0	0	17	2	0	81
		5000×	0	0	0	0	96	2	0	2
		10000×	0	0	0	0	89	2	0	9
		20000×	0	0	0	0	98	0	0	2
		対照	0	0	0	0	99	1	0	0

* A）必ずしも生死の明らかならざるもの 1. 単細胞卵： 胞形成萎縮顆粒像の認められるもの 2. 多細胞変性像 B）死卵と判定しうるもの 単細胞の顆粒化及び崩壊像を認めるもの

第2表 亜硝酸ソーダ 浸漬温度28°C
2週間浸漬後の豚蛔虫子宮部位別による
発育分類卵比較表 *

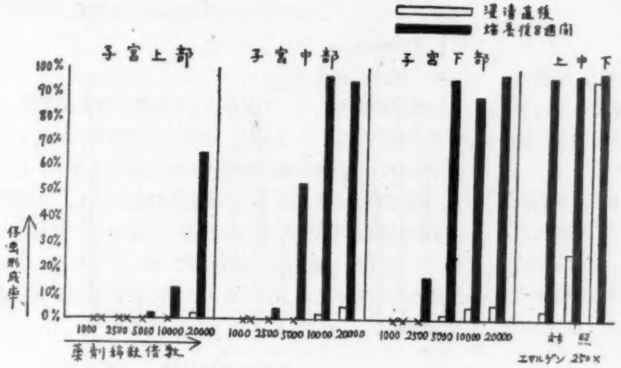
子宮部位	観察時期	稀釈濃度	正常単	分割球	桑椹	蝌蚪	仔虫	変性卵分類 A)1	2)	B)
子宮上部	培養直後	1000×	86	0	0	0	0	14	0	0
		2000×	82	0	2	13	3	0	0	0
		4000×	78	0	13	5	4	0	0	0
		8000×	59	5	18	10	8	0	0	0
		16000×	45	4	24	18	9	0	0	0
		対照	38	6	22	21	13	0	0	0
子宮上部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	0	0	100
		2000×	0	0	0	0	61	0	0	39
		4000×	0	0	0	0	86	0	0	14
		8000×	0	0	0	0	81	0	0	19
		16000×	0	0	0	0	48	10	0	42
		対照	0	0	0	0	96	4	0	0
子宮中部	培養直後	1000×	69	0	0	0	0	31	0	0
		2000×	60	0	0	0	18	22	0	0
		4000×	16	16	22	14	17	15	0	0
		8000×	11	18	30	27	14	0	0	0
		16000×	14	12	22	31	21	0	0	0
		対照	13	9	18	29	31	0	0	0
子宮中部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	8	0	92
		2000×	0	0	0	0	58(生)	0	0	42
		4000×	0	0	0	2	79(生)	2	0	17
		8000×	0	0	0	0	84(生)	0	0	16
		16000×	0	0	0	0	89(生)	7	0	4
		対照	0	0	0	0	97(生)	3	0	0
子宮下部	培養直後	1000×	78	0	0	0	0	22	0	0
		2000×	20	0	46	0	26	8	0	0
		4000×	8	0	15	5	72	0	0	0
		8000×	0	4	12	9	75	0	0	0
		16000×	0	2	2	15	81	0	0	0
		対照	0	0	8	8	84	0	0	0
子宮下部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	37	0	63
		2000×	0	0	0	0	72(生)	0	0	28
		4000×	0	0	0	1	97(生)	0	0	2
		8000×	0	0	0	0	99(生)	1	0	0
		16000×	0	0	0	0	98(生)	1	0	1
		対照	0	0	0	0	98(生)	2	0	0

第1表に同じ

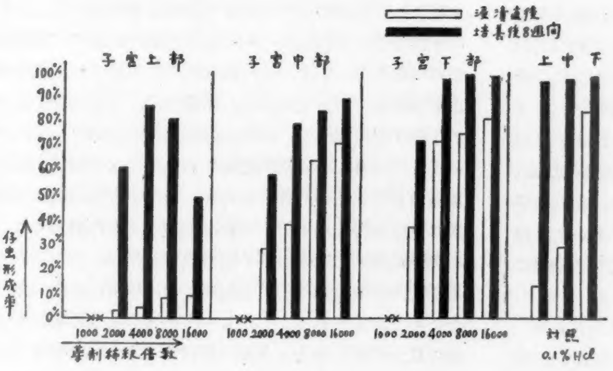
第3表 芥子油 浸漬温度28°C
2週間浸漬後の豚蛔虫子宮部位別による
発育分類卵比較表 *

子宮部位	観察時期	稀釈濃度	正常単	分割球	桑椹	蝌蚪	仔虫	変性卵分類 A)1	2	B)
子宮上部	培養直後	1000×	7	0	0	0	0	93	0	0
		2500×	17	0	0	0	0	83	0	0
		5000×	24	0	0	0	0	76	0	0
		10000×	22	0	0	0	0	78	0	0
		20000×	14	0	0	0	0	86	0	0
		対照	95	3	0	0	0	2	0	0
子宮上部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	0	0	100
		2500×	0	0	0	0	2	0	0	98
		5000×	0	0	0	0	0	2	0	98
		10000×	0	0	0	0	0	29	0	71
		20000×	0	0	0	0	2	7	0	91
		対照	0	0	0	0	95	2	0	3
子宮中部	培養直後	1000×	19	0	0	0	0	81	0	0
		2500×	15	0	0	0	0	85	0	0
		5000×	9	0	0	0	0	91	0	0
		10000×	6	0	0	0	0	94	0	0
		20000×	1	2	0	0	1	96	0	0
		対照	5	0	16	58	21	0	0	0
子宮中部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	41	0	59
		2500×	0	0	0	0	2	39	0	59
		5000×	0	0	0	0	0	21	0	79
		10000×	0	0	0	0	0	36	0	74
		20000×	0	0	0	0	0	13	0	87
		対照	0	0	0	0	96	2	0	2
子宮下部	培養直後	1000×	5	0	0	0	0	95	0	0
		2500×	8	0	0	0	0	92	0	0
		5000×	11	0	0	0	0	89	0	0
		10000×	14	0	0	0	0	86	0	0
		20000×	12	0	0	0	0	85	3	0
		対照	0	9	8	11	72	0	0	0
子宮下部	培養後8週間	1000×	0	0	0	0	0	97	0	3
		2000×	0	0	0	0	0	98	0	2
		5000×	0	0	0	0	0	69	0	31
		10000×	0	0	0	0	0	84	0	16
		20000×	0	0	0	0	0	48	24	28
		対照	1	0	0	0	95(生)	3	1	0

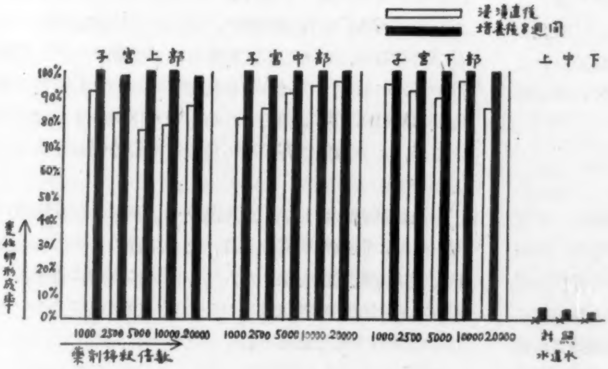
第1表に同じ



第1図　蛔虫子宮内各部位卵の二硫化炭素液接触時におけるその仔虫形成率について
(接触温度 28°C, 培養, 瓦培養直後〜8 週)



第2図　蛔虫子宮内各部位卵の亜硝酸ソーダ液接触時におけるその仔虫形成率について
(接触温度 28°C, 培養, 瓦培養直後〜8 週)



第3図　蛔虫子宮各部位卵の芥子油液接触時におけるその変性卵形成率について
(接触温度 28°C, 培養, 瓦培養直後〜8 週)

虫形成率が増加していることがわかつた。

ロ 変性卵形成率について

先づ子宮各部位について見ると(第1表参照)，子宮上部内卵，中部内卵，下部内卵と次第に下降するにしたがつて，漸次変性卵形成率は減少を示しており，対照に比しては何れも増加を示している。

また薬剤稀釈濃度について見ると，子宮上部，子宮中部及び子宮下部において，即ち，すべての子宮部位において，薬剤稀釈濃度が，増加するに従つて，変性卵形成率は減少を示している。観察時期による変性卵形成率の変化は仔虫形成率におけると同様であつた。

2. 亜硝酸ソーダ液接触時の成績

イ 仔虫形成率について

子宮各部位について見ると(第2図，第2表参照)二硫化炭素の場合と同様，培養後8週の子宮下部内卵で稀釈度4000倍以上のものでは，殆んど同様に仔虫形成率を示しているが，それ以外では，やはり対照より劣つている。次に薬剤稀釈濃度について見ると，子宮中部及び子宮下部内卵においては二硫化炭素の場合と同様であるが，子宮上部内卵においては，薬剤稀釈度の増大と仔虫形成率のそれとが必ずしも一致していない成績が見られた。この原因については充分明でない。なお，何れの子宮部位内卵においても，稀釈倍数1000×においては仔虫形成卵は認められなかつた。観察時期に関する結果は二硫化炭素の場合とほぼ同様であつた。

ロ 変性卵形成率について

先ず，子宮各部位について見ると(第2表参照)，二硫化炭素の場合とほぼ同じであり，薬剤稀釈濃度について見ると，子宮中部及び子宮下部内卵においては二硫化炭素の場合と同様であるが，同時に子宮上部内卵において，薬剤稀釈度の増大と変性卵形成率との減少が必ずしも一致しなかつた点は，当然ながら丁度前者と仔虫形成率との関係の逆となつている。なお，観察時期について見ると，これは大体において二硫化炭素の場合とほぼ同様であつた。

3. 芥子油接触時の成績

イ 仔虫形成率について

先ず，子宮各部位について見ると(第3表参照)，子宮上，中，下部内卵においては培養後8週間の場合，如何なる稀釈度の場合でも少数の例外を除いて何等仔虫形成卵を生じなかつた。つまり芥子油のこの程度の稀釈度における上記浸漬条件における浸漬ではその殺卵効果が尚著しく，従つて何れの場合においても殆ど仔虫形成を示さず，よつて，子宮内卵のその部位による抵抗力の差はこれを認めうるに到らなかつた。

ロ 変性卵形成率

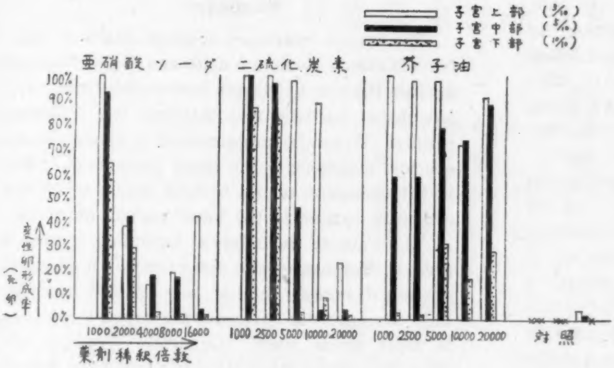
変性卵形成率について見ると(第3図，第3表参照)，子宮各部位では，子宮上部，中部，下部内卵の殆んど全べてにおいて変性卵形成率はきわめて高度である。ただし，培養直後のものに比し同8週のものの上，中部卵は薬剤稀釈度の低下に伴つて急速に分類B)に移行するが，下部内卵はB)えの移行程度が低い。この事は子宮下部内卵の方がその上部のものに比し変性速度が遅い事を意味する。

考察および小括

以上私は豚蛔虫子宮内各部位卵の薬剤に対する抵抗性を比較して，子宮各部位卵の発育経過及びその抵抗性の比較として仔虫形成率及び変性卵形成率を以つてし，その子宮各部位の抵抗性の差異を各種薬剤によつて比較したのであるが，いま，その成績について見ると，先ず仔虫形成率は，子宮上部内卵，中部内卵，下部内卵と部位が下降するに従つて，二硫化炭素及び亜硝酸ソーダにおいてはその各々一定稀釈濃度においてそれの漸次的な増加を示しているが，芥子油においては子宮部位による差異は見出せ得なかつた。これは前述のように恐らくはこの実験に用いた濃度の芥子油の殺卵効果が，部位別による子宮内卵の殺卵に差異を生ぜしめる以上に強力であつたためと考えられる。しかし一方前述のようにその変性卵の私たちの分類AよりBに移行する割合は子宮下部内卵において特に低く，このことは子宮下部内卵は他のものに比して変性速度が遅いことを意味する。

いま上記各種薬剤別につき，培養8週のものの各部位内別の分類Bに属する変性卵の事を図示すれば第4図のごとくである。変性卵B類は，私たちが死卵と判定したものであるが，いまこの図を見ると亜硝酸ソーダ，芥子油の各々においては何れの各稀釈度においても子宮下部内卵における死卵と判定されるものの率が小さくなつているが，この関係は芥子油においても全く同様であることが分る。

以上の検討からして，亜硝酸ソーダ及び二硫化炭素に対しては，豚蛔虫子宮内卵は，その下部のものにいたるほど強力な抵抗性を示すが，この関係は同時に芥子油に対する各部位卵の抵抗性についてもほぼ該当するということが云いうるであろう。



第4図　蛔虫子宮内各部位卵の各種薬剤接触時におけるその培養8週後における変性卵中死卵形成率について
(接触温度28°C, 培養, 瓦培養)

全篇の総括

蛔虫の子宮内卵の末端部の虫卵は完成排出卵とほゞ同様に発育することはすでに知られているが，その子宮内部の位置によりそこに位する各虫卵の発育経過を追跡したものは乏しい。私は豚蛔虫を用いその虫卵が子宮内部の位置により，それ等の発育に如何なる差があるかを知る為瓦培養法によりこれら各部位の虫卵をそのまま一定条件で培養して，その各部位による発育状態を比較した。またこれら各部位の虫卵内の抵抗力の差を知るため，各種濃度のフオルマリン中および各種殺卵剤中に一定条件でこれらを浸漬後，培養，その発育経過を追跡して次の如き結果を得た。

1)　豚蛔虫子宮内卵は，子宮体 1/10 および 2/10 では培養約1カ月にわたるも単細胞のままで何らの変化を示さないが，3/10 以下では時日の経過と共に次第に発育は高度となり，子宮最下方に至るにつれてその仔虫形成率は高くなり最下端は最も多い。

2)　各種濃度フオルマリン水溶液に子宮各部位内卵を浸漬してその仔虫形成度を検するに，一般に子宮下部内卵に比して子宮上部内卵にいたるほど，フオルマリン濃度の増加，浸漬期間の延長および浸漬温度の増大にしたがつて，その形成度が低下している。

3)　またいわゆる各種殺卵剤中に子宮各部位内卵を浸漬してその仔虫形成度を観察すると，二硫化炭素および亜硫酸ソーダの場合においては，それらの一定稀釈濃度について，子宮下部内卵に比してその上部内卵にいたるほどその仔虫形成度は低下している。芥子油浸漬の場合においては使用した稀釈度が高かつたため一般に仔虫形成は見られなかつたが，変性卵形成度より見ると子宮上部卵に至るほどその度合が進行していた。

4)　以上の結果を綜合してみれば，豚蛔虫子宮内卵は，その上方のものより下方にいたるにしたがつて，その発育比率は次第に高くなると共に，各種薬剤に対する抵抗力もまたこれに比例して下方内卵にいたるほど増大し，この両現象は子宮下部のものに到つて最大に達する。けだしこれは子宮下部内卵に比して上部内卵にいたるほど未完成卵が多いためその発育力および抵抗性が弱いということに基くものであろう

稿を終るにあたり，御指導，御校閲を賜わつた，恩師小宮義孝博士及び石崎達博士に深甚なる謝意を表し，実験に御協力いただいた，小林昭夫博士に感謝致します。

(本論文の要旨は昭和31年10月，第16回日本寄生虫学会東日本支部大会で発表した)。

文　献

1) 久津見晴彦 (1955)：低温におけるネオヂクロンおよび二硫化炭素の蛔虫卵殺滅試験とその効果判定について，寄生虫学雑誌，4(4)，337-342. —2) 藤田敏子(1955)：二硫化炭素と其の拡散剤による糞池内蛔虫卵の死滅試験，寄生虫学雑誌，4(2)，154. —3) 国井喜章等(1955)：芥子油の殺卵機構，寄生虫学雑誌，4(2)，216. —4) 久津見晴彦・大手裕(1955)：ネオヂクロン及び二硫化炭素による蛔，鉤虫卵殺滅試験，寄生虫学雑誌，4(1)，5-11. —5) 松村竜雄等(1955)：殺卵剤の研究，寄生虫学雑誌，4(2)，119. —6) 佐渡正四郎(1954)：寄生虫殺卵剤の研究 (1)，文献の追試及び市販殺虫殺菌剤の殺卵力について，衛生試験所報告，72，257-267. —7) 柳沢十四男(1954)：化学薬品による虫卵殺滅試験方法の検討，第14回寄生虫学会東日本支部大会記事，20. —8) 国井喜章・池内まき子(1953)：農村の蛔虫駆除に関する研究，—蛔虫卵の芥子油処理—，農業技術研究

所報告，H（経営土地利用），6，55-61．—9）小宮義孝(1955)：新しい駆虫剤と殺虫剤，公衆衛生，15(6)，41-46．—10）小宮義孝(1955)：寄生虫卵殺滅剤研究の最近の展開，臨床消化器病学，3(11)，609-615．—11）和泉精一(1953)：数種市販消毒薬の蛔虫卵殺滅効果に就いて，東京医事新誌，71(1)，29-33．—12）浅見敬三・小林昭夫・斎藤昭三(1955)：放射性物質 Cobalt—60，照射による蛔虫卵殺滅に関する研究，寄生虫学雑誌，4(4)，331-336．—13）斎藤敏昭(1955)：蛔虫子宮内卵の発育及びその抵抗性に関する研究，第一報，豚蛔虫子宮各部位における卵の培養発育経過に関する研究，寄生虫学雑誌，4(3)，268-271．—14）斎藤敏昭(1956)：蛔虫子宮内卵の発育及びその抵抗性に関する研究，第二報，各種濃度ホルマリン水浸漬後の豚蛔虫子宮内各部位卵の発育経過に関する研究(1)，寄生虫学雑誌，5(1)，1-5．—15）斎藤敏昭(1956)：蛔虫子宮内卵の発育及びその抵抗性に関すを研究，第二報，各種濃度ホルマリン水浸漬後の豚蛔虫子宮内各部位卵の発育経過に関する研究，(2)，寄生虫学雑誌，5(4)，468-473．—16）小宮義孝等(1956)：所謂殺卵剤(二硫化炭素・亜硝酸曹達・芥子油・ネオデクロン)の各種作用条件に於ける屎尿中蛔虫卵殺滅試験に就て，日本公衆雑誌，3(11)，532-538．

Summary

The author examined ovocidal effects of Carbone Disulfide, Sodium Nitrite and Oil of Mustard against the ova of *Ascaris lumbricoides* from various uterus portions and obtained the following results. When the concentration of above various ovocidal substance is the same percentage of the larval formation of ova became higher when the ova were located in the lower portion of uterus.

The rate of their larval formation showed a gradual decrease as the concetration of ovocidal substance became higher and at their definite high concentration no ova were found to develop to their larval stage. Generally speaking ova from the upper most portion showed the lowest resistance, wheras those from the lowest portion the highest resistance against ovocidal substance of various cocentration.

The cause of such difference of their development is considered to be due to the structual difference of the respective ova in the various uterus portions.

日本住血吸虫卵検査法の比較*

伊藤二郎
静岡大学教育学部保健教室
何尚英
中国江蘇省血吸虫病防治研究所

(昭和32年2月25日受領)

糞便内血吸虫卵検査方法として，中国では一般に沈澱孵化法が用いられており且つ可成りの好成績をあげている。日本では住血吸虫卵検出の目的には AMS III 法がもちいられ，さらに 虫卵のために直接塗抹法，鈎虫卵のために飽和食塩水浮游法，其の他の虫卵のために稀塩酸・エーテル法などのごとく，それぞれの目的によつて各種の方法がもちいられている。今回血吸虫病防治に関して日中協同研究の機会をえたので上記各種の検査法の比較研究を行つた。検出目的はもつぱら住血吸虫卵におき，同時に他種虫卵も併記して参考とした。特に鈎虫の濃厚に感染せる事実に鑑み，別項目として飽和食塩水の浮游法をも同時に行つた。

検査材料及び方法

大部分は無錫の防治研究所の入院患者から，一部分は一般住民から糞便材料を得た。これらの糞便は総べて前日に用意し，500 cc 容量の琺瑯引きのコップに入れて2～4°C の冷蔵庫に保管して翌日の検査に供した。都合により若干は同一人の異る日に排泄された糞便を用いた例もあるので，此の結果は必ずしもこの地方の浸淫状況を示すものではない。

次に実際に行つた各種の検査法を説明する。

1. 直接塗抹法

約 3 mg の糞便を 30 %グリセリン水で泥状に攪拌し，18 mm² のカバーグラス一枚で検鏡した。その厚さは標本の下に敷いた新聞紙が判読出来る程度である。

2. 稀塩酸エーテル法

約 2 g の糞便を 15 cc 容の小試験管に入れ，7 %塩酸水 10 cc 注加攪拌後，625 孔/cm² の銅製金網で濾過した。この濾液を沈澱管に取り，さらに 4 cc のエーテルを加えた後充分つよく振盪，毎分 3500 回転で 3 分間遠心沈澱した。その沈渣を 18 mm² のカバーグラス一枚で検鏡した。

3. AMS III 法

比重 1080 塩酸水 (濃塩酸 45+水 55) と比重 1080 の無水硫酸ソーダ液 (Na_2SO_4 9.9 g+水 100 cc) を等量混合した液 (AMS 液と記す) を調製した。約 2 g の糞便を上記の小試験管に入れ，AMS 12 cc を加注攪拌，金網で濾過後毎分 2000 回転で 2 分間遠心沈澱した。その後上層を棄てて再び AMS 液 12 cc 注加攪拌遠沈して上層を棄てた。その沈渣に AMS 液 8 cc，エーテル 4cc，Triton 2 滴注加して充分強く振盪し，毎分 3000 回転 2 分間遠沈後，上層を棄ててその沈渣を検鏡した。

4. AMS III 変法

下記の自然沈澱法による沈渣 100 cc を小試験管に分注して毎分 1000 回転 2 分間の遠心沈澱を行い，上層を棄てて沈渣に AMS 液 8 cc，エーテル 4 cc，Triton 2 滴を加えた。以後の方法 AMS III はの原法と同様である。

5. 自然沈澱法

此の方法は常時，無錫の防治研究所で行われている方法である。即ち糞便約 50 g の大量を前記の金網で濾過して 500 cc 容量の尿コップに入れ，自然沈澱を待つて約 30 分後に上層液を棄てて再び水道水を加えて自然沈澱を待つ。此の操作を 4～5 回繰返えすと上層液は殆んど透明になる。これに要する全所要時間は約 1～2 時間である。此の沈渣を二枚のスライドグラスに一面にのせて検鏡した。即ち検鏡に要した分量は 18 mm² のカバーグラスの約 6 倍に相当する。

JIRO ITO & HO SHANG YING: A comparison of techniques for recovery of *Schistosoma japonicum* ova from human feces. (Department of Hygiene, Faculty of Education, Shizuoka University, Shizuoka, National Institute for Shistosomiasis japonica in Chiangsu Province, China)

* 此の研究は江蘇省血吸虫病防治研究所において，日本と中国との協同のもとに行われたものである。

6. 孵化法

上述の方法によつて得た沈渣の残部を250 cc 入りの三角コルベンに入れ，頸部迄水道水を満して25°C の孵卵器内に収容した。ミラシジウムの孵化状況は翌朝（約18時間後）に肉眼で観察し，ミラシジウムの数が極めて少い場合は特にピペットでスライドグラス上に取つて確認した。更に陰性の例についてはその後数時間毎に2〜3回に亘り同様の観察を行つた。此の方法も亦常時無錫の研究所で行われている方法である。

検鏡に際しては100〜400倍の顕微鏡を用い，十字動装置に依つて全虫卵数を算定した。

検査結果

各表における陽性者総数とは絶対的な数字でなくて便宜上各方法で発見された結果の綜合であり，虫卵数とは各陽性例で発見された虫卵数の総計である。

第1表に示した如く，第1群の50名では住血吸虫の検

第1表　50名検便の比較

		陽性者総数	直接塗抹法	稀塩酸エーテル法	AMS III 変法	自然沈澱法	孵化法	沈澱孵化協同
第一群（五十名） 住血吸虫	陽性者数	35	10①	13②	25③	26④	30⑤	33⑥
	虫卵総数		87	100	2268	1675		
	蛔虫	7	7	5	5	6		
	鉤虫	23	4	14	15	14		
	鞭虫	9	4	6	8	2		

		陽性者総数	直接塗抹法	AMS III 原法	AMS III 変法	自然沈澱法	孵化法	沈澱孵化協同
第二群（五十名） 住血吸虫	陽性者数	42	10①′	26②′	27③′	29④′	39⑤′	41⑥′
	虫卵総数		70	294	834	2357		
	蛔虫	15	13	10	11	14		
	鉤虫	25	2	11	14	13		
	鞭虫	17	4	11	10	5		
	肥大吸血	5	1	5	5	5		

$\frac{|M_1-M_2|}{\sqrt{m_1^2+m_2^2}}$　①と②=0.7　①′と②′=3.6　②と③=2.5　②′と⑥′=3.4　②と⑥=4.4

出力は直接塗抹と稀塩酸・エーテルの両法が最も低く，且つ虫卵数も少い。それに比して他の3法は有意の差を以て検出力が高かつた。殊に AMS III 変法と自然沈澱法の両法は何れも発見虫卵数が著しく多い。更に中国で普通に用いられている沈澱孵化協同の結果は陽性者総数にほゞ近い結果を示した。第2群の50名については，稀塩酸・エーテル法を中止して AMS III 法を新採用した以外は全く第1群の場合と同様である。第2群の結果によれば，AMS III 法は AMS III 変法と略ゝ同様の成績であり，その他の成績は第1群の場合と大同小異の結果をえた。

以上の結果を綜合する為に，稀塩酸・エーテル法と AMS III の原法を除外して，その他を合計して第1表に示した。日本住血吸虫卵に対する各種検査法の結果を此の表によつて見ると，直接塗抹法は全陽性者の約26 %を検出し得るのみで不適当である。AMS III 変法と自然沈澱法は共に約70 %の検出力を示し，同時に発見

第2表　100名検便の比較

		陽性者総数	直接塗抹法	AMS III 変法	自然沈澱法	孵化法	沈澱孵化協同
住血吸虫	陽性者数	77	20①	52②	55③	69④	74⑤
	虫卵総数		157	3102	4032		
蛔虫		22	20	16	20		
鉤虫		48	6	26	27		
鞭虫		26	8	18	7		
肥大吸虫		5	1	5	5		

$\frac{|M_1+M_2|}{\sqrt{m_1^2+m_2^2}}$　①と②=5.0　②と⑤=3.3

虫卵数が極めて多く，第1表に示した AMS III 原法と共に優秀である。孵化法は全陽性者の約90 %を検出したが，本法単独では他種虫卵を検出し得ない欠点がある。最も優秀な結果は即ち自然沈澱法と孵化法を同時に行つた場合で全陽性者の約90 %を検出する事が出来るし，同時に他の各種虫卵も検出しうる（他の各種虫卵の検出結果については表を参照されたい）。

鉤虫卵検出成績

中国における日本住血吸虫病患者が同時に鉤虫に感染して貧血を呈している例が多いのに鑑み，68名の任意

抽出せる被検者については特に飽和食塩水浮游法による鉤虫卵の検出を行つた。

糞便約 2 gr を 15 cc 容の小試験管に入れ，飽和食塩水(比重 1.200) を若干注加して充分に攪拌混和し，さらに飽和食塩水を満して管口迄盛り虫卵の浮上を待つた。30～40 分経過後，アルコール中に保存した充分清浄な被蓋硝子をその管口に載せて液面と接触せしめ，1～2 分後にその被蓋硝子を水平に保持したまゝ液面からはなして載物硝子にのせて検鏡した。浮游変法として以下の方法も試みた。即ち上述の原法では糞便をそのまゝ用いたが，変法では充分濾過洗滌した糞便，即ち前述の自然沈澱法で得た沈渣を用いた。その他は上述と全く同様である。

その結果を第 3 表に示した。直接塗抹法で検出された鉤虫陽性者数は全陽性者数に比すれば僅か 14 %にすぎず，発見虫卵数も著しく少い。AMS III 原法と自然沈澱法の両者は全陽性者数のほゞ半数を検出し得たがなお充分ではなく，浮游法を適用して始めて最も高い検出力を認めた。其他の虫卵の検出力については表に示した如くである。

第 3 表　68 名鉤虫卵浮游法の比較

		陽性者総数	直接塗抹法	AMS III 原法	自然沈澱法	浮游原法	浮游変法
鉤虫	陽性者数	36	5①	16②	18③	26④	29⑤
	虫卵総数		17	56	179	1014	765
血吸虫		53	13	32	39	4	21
蛔虫		20	16	13	16	13	16
鞭虫		27	5	14	7	20	14
薑片虫		5	1	5	5	0	1
蟯虫		1	0	0	0	1	1

$$\frac{|M_1-M_2|}{\sqrt{m_1^2+m_2^2}}$$

②と④=1.9
③と④=1.5
③と⑤=2.0

考　察

糞便内虫卵の検出力に影響する条件は多数あるが今回は之等の条件を一応考慮外におき，専ら実際に行われている方法を適用して大凡の優劣の判定に資したものである。糞便検査を実用とする場合には一般にその検出力の大きい方法と同時に手技の簡単で能率的な方法がえらばれると考えられるが，その観点に立つて今回の実験結果を見ると，日本住血吸虫卵の検出に関する限りでは自然沈澱孵化法が最も優秀である。此の方法は現在中国で実用されて居る方法であるが，糞便が可成り大量（本実験では約 50 gr）必要であり，然らざる場合は AMS III 法が用いられなければならないと考えられる。

尚今回の被検者は大部分は日本住血吸虫病患者であるが，同時に鉤虫被寄生者が割合に多い。中国においては，此の事実に徴し血吸虫卵検査と同時に浮游法による鉤虫卵の検査も行う事が望ましい。

要　約

1. 糞便内の日本住血吸虫卵の検出には，糞便を約 50 gr を用いて自然沈澱孵化法を適用した場合に最も優秀な成績が得られた。

2. 比較的少量の材料から検出しなければならない場合には AMS III 法が適当と考えられる。

3. 中国においては，日本住血吸虫卵の検出と同時に浮游法による鉤虫卵の検出をすることが望ましい。

文　献

1) 安済英(1936)：日本住血吸虫卵之糞便検査，中華医雑，227(12)．—2) 張寅恭・婁祖緯(1956)：血吸虫病 159 例糞便検査結果報告，中級医刊，1956 (10)，664-667．—3) Faust, E. C. & Ingalls, J W. (1956)：The diagnosis of schistosomiasis japonica III. Technics for the recovery of the eggs of *Schistosoma japonicum*. Amer. Jour. Trop. Med., 26(5)，559-582．—4) 何尙英(1956)：糞便検験方法改進的実験，江蘇省血吸虫病防治研究所実験研究工作専題報告，1，144-149．—5) Hunter, G. W. III, *et al* (1946)：Comparison of methods fo rrecovery of eggs of *Schistosoma japonicum* from feces. Amer. Jour. Clin. Path. 16(11)，721-724．—6) Hunter, G. W. III, *et al* (1948)：U. S. Army Med. Dept. Bull., 8(2)，128-131．—7) 伊藤二郎 (1953)：日本住血吸虫卵の外界環境に対する抵抗性 I, 本虫卵に対する各種集卵法の比較，日新医学，40 (8)，450-454．—8) 黄天威(1952)：光度及温度影響日本住血吸虫卵之孵化及其毛蚴之観察，中華新医学報，3(7)，539-545．—9) 厚生省編纂(1950)：衛生検査指針 II，原虫寄生虫検査指針．

Summary

Several techniques for recovery of *Schistosoma japonicum* ova from feces were compared. Techniques employed were direct smear, Miyagawa's HCl-ether, original and modified AMS III, natural sedimentation and hatching. The material which was utilized consisted of stools of Chinese patients infected with *S. japonicum*, before, during and subsequent to chemotherapy.

The results of the tests summarized in the table indicate that the combined technique of natural sedimentation and hatching, as employed usually in China, gave superior yield of eggs and miracidia of good diagnostic quality. This technique is, though it is necessary to deal with a large amount of feces as much as about 50 gram, considered to be easily employable for routine work. The AMS III technique showed to provide superiority over direct smear and HCl-ether technique, and no significant difference from the sole natural sedimentation technique in both the quantity and diagnostic quality of the eggs in spite of the preparation of a small amount of fecal material. Yet the procedure is somewhat complicate, the AMS III technique may be suitable for the detailed examination of a small amount of feces.

During this work, not less than half of the Chinese patients of schistosomiasis were found infected with hookworm at the same time. So it is very desirable to examine the hookworm ova with applying NaCl floatation technique side by side with the examination of schistosome eggs.

寄 贈 文 献 目 録（9）つづき

381. 三浦守，梶原誠一，梅本元彦，菅原謙次(1955)：蛔虫角皮の病的現象並びに豚蛔虫の統計的観察，熊本医学会雑誌，29(7)，870～875.

382. 岡村一郎，三浦守，松下文雄，菅原謙次，(1955)：鹿児島県十島村口之島に於けるフィラリア調査，熊本医学会雑誌，29(7)，876～878.

383. 梶原誠一，三浦守，荒木外也，(1955)：感光色素ルミンが鉤虫卵及び仔虫に及ぼす影響，熊本医学会雑誌，29(7)，879～882.

384. 羽田野邦和，内田健一，鶴田貢，藤本滋(1956)：放射性同位元素 P^{32} の寄生虫卵子発育に及ぼす影響，熊本医学会雑誌，30(2)，168～170.

385. 三浦守，中島典雄，斎藤文男，林田正典，岡山清(1956)：公衆浴槽の寄生虫学的観察，熊本医学会雑誌，30(補冊6)，1366～1369.

386. 三浦守，棚瀬幸正，有岡寿，梶原誠一(1956)：各種食品に於けるコナダニ類発生状況について，熊本医学会雑誌，30(補冊6)，1370～1372.

387. 三浦守，松山滋，寺本昭三，有岡寿，中島典雄，(1956)：熊本地方に於ける屋内蝿の内部寄生虫，熊本医学会雑誌，30(補冊6)，1373～1375.

388. 三浦守，松山滋，寺本昭三，有岡寿，梶原誠一，中島典雄，(1957)：熊本地方に於ける屋内蝿の外部寄生虫，熊本医学会雑誌，30(補冊6)，1376～1377.

389. 渡辺桂吉，(1957)：皮下組織球性細胞貪喰能に及ぼす各種蛔虫毒の影響　第1編～第3編，熊本医学会雑誌，31(3)，217～236.

390. 松下文雄，渡辺桂吉，谷田末高，寺尾知道(1956)：肝蛭の Phosphatase の分布について，熊本医学会雑誌，30(補冊6)，1378～1381.

391. 羽田野邦和，菅原謙次，分山志郎，梶原誠一(1955)：日本産有棘顎口成虫の人体寄生の1例，熊本医学会雑誌，30(補冊6)，1411～1413.

392. 松下文雄，(1957)：蛔虫の組織化学的研究　第1篇　Phosphatase の分布について，第2篇 Lipase の分布について，第3篇　糖原質及び脂質の分布，熊本医学会雑誌，31(補冊1)，119～140.

393. 三浦守，梶原誠一，村上和充，松下文雄，羽田野邦和，(1955)：昭和28年6月の水害後の熊本市泥土の寄生虫学的考察，熊本医学会雑誌，29(7)，823～825.

ヅビニ鉤虫多数寄生患者の一例*

オーミンによる治験例

好井 敏昭　三浦 梧楼　河野 明
大阪医科大学内科学教室（指導 岩田繁雄教授）

(昭和32年2月25日受領)

緒　言

吾が国に鉤虫症患者の非常に多いことは今更言うまでもなく，その分布は殆ど全国的であるが，大体北海道，東北地方の寒地は少く関東以西特に九州南部に最も多い。本虫の分布に関する今日までの見解では，ヅビニ鉤虫(以下ヅ鉤虫)は全国的であり，アメリカ鉤虫（以下ア鉤虫）は概ね関東以南に存し南下するにつれて多くなると考えられている。之に関してヅ鉤虫が優位であると言う人とア鉤虫が多いと言う人とがあるが，最近永吉(1954)は農民を対象としてヅ鉤虫に比しア鉤虫が甚だしく濃厚に分布せることを記している。又その他の度々報告された統計より見て，本虫の寄生濃度は確かに高率であると共に一方その各々の寄生例に就いて甚だ多数の寄生せる例を見聞するに及んでは，鉤虫症患者が，貧血を主として各種重篤なる症状を呈する事実と併せ考える時，本症は誠に恐るべき疾患の一つであると言うべきであろう。

集団駆虫時等に多数の鉤虫体排出を見た統計報告は屢ゝみる所であるが，既に報告された個々の多数寄生例の臨床報告に就いては，江口・三好(1950)による529隻のヅ鉤虫寄生のため死亡した剖検例の報告の外，450余条の十二指腸虫の排出をみた河井(1926)の治験例や，1000隻以上も排出して正確に数え切れなかつたという高田(1936)の報告等があるのみである。又宮川先生(1955)は質疑応答集にて，小泉博士は1500隻の剖検例を持つておられると記しており，先生の経験では465隻が最も多い寄生例であると言われている。ちなみに吾が教室に於ける過去10年間の鉤虫症患者の調査成績をみるに，最も多く排出された虫体数は438隻である。

而して永吉氏の集計によれば，調査例数560例の中多数寄生例特に500隻以上の虫体をみたのが64例である。そしてヅ鉤虫の単独寄生による最高寄生数は376隻であるが，ア鉤虫の単独寄生の場合は2174隻である。又混合感染の場合でもヅ鉤虫の最高が503隻であるが，ア鉤虫は実に3501隻を数えている。

之に依つて判る様に，鉤虫の多数寄生例はかなり多いが，ア鉤虫に比しヅ鉤虫の多数寄生例の少い事実が注目される。之は永吉氏の言われる如く，ヅ鉤虫の病原性がア鉤虫のそれに比して1.0：5.1の割合に強く，ために鉤虫の病害に対し人体が許容し得る最高の限界寄生数が，ア鉤虫は2400隻でヅ鉤虫は500隻であると言う点からヅ鉤虫の多数寄生例は少いものと思われる。実際特にヅ鉤虫の多数寄生例の報告が少い所からみても，幾多の多数寄生例の中，大部分はア鉤虫でヅ鉤虫の多数寄生例は尠いものと思われる。

又鉤虫症の臨床については多くの人々が関心を持ち幾多の業績がある。そして本症の複雑にして広範囲の種々の障害を来すことを知り，事実臨床に於て鉤虫症患者の色々な軽視出来ない諸症状を診るに及んで，未だ重要なる研究課題の残されている現実に多大の関心を持つものである。

教室では先に鉤虫駆除剤として，オーミン（ブロム・ナフトール）(緒形1953，岩田ら1953，岩田ら1954，岩田1953)の有効なることを見出し数多くの成績について報告しているが，著者等は今回同剤による2回の駆虫の結果総数実に638隻の鉤虫体の排出を見，而もその561隻がヅ鉤虫であり，そのために鉄欠乏性低色素性の重症貧血を来していた患者を経験したので，その経過の大略並に諸検査成績と排出虫体の分類及び駆虫の実状について報告する。

TOSHIAKI YOSHII, GORO MIURA & AKIRA KONO: A treated case of *Ancylostoma duodenale* Dubini patient by use of *Wormin* (1-Bromo 2-Naphtol) (Department of Internal Medicine, Osaka Medical College, Osaka)

* 本篇の要旨は昭和30年11月3日第11回日本寄生虫学会西日本支部大会にて発表した

症　例

患者　福○熊○郎　54歳　無職

初診　昭和30年7月7日

既往歴　幼時より難聴がある。19歳の時腸チフスに罹患し，32歳の時膝関節炎に罹患す。痔核があるが現在出血はない。性病は否定している。

家族歴　父が胃癌で死亡の外特記すべきものはない。

主訴　全身倦怠及び胸内苦悶。

現病歴　約2ヵ月程前から全身倦怠，心悸亢進，眩暈を訴えており，顔色が悪いと周囲の人々から言われていた。初診の3日前に急に胸内苦悶が起り，同時に四肢の痙攣を伴つた。その時は暫くでおさまつたが同様の発作をその後数回繰り返して入院した。食慾は普通，睡眠稍ゝ不良，便通は1日1回で普通。

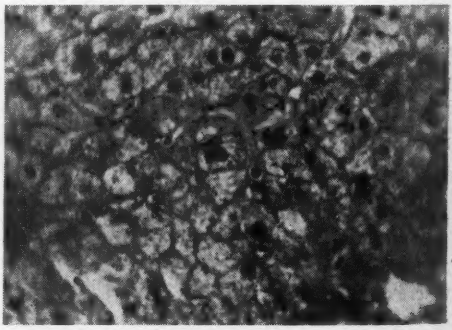
現症　体格中等度，栄養稍ゝ衰う。体温37度2分至，脈搏80至で緊張よく整調。意識は明瞭，皮膚は軽度黄色調を帯び可視粘膜は強度に貧血性である。顔貌は略ゝ正常，瞳孔対光反射は正常である。舌は全般に白苔が認められ口臭がある。淋巴腺は腋窩淋巴腺が小指頭大に触れる外異常なし。頸部に於て左右共独楽音を著明に聴取する。肺肝境界は右鎖骨中線上に於て第7肋間腔であり，心濁音界は左側乳線より稍ゝ外方に拡大しており，心尖部に収縮期性雑音を著明に聴取する。胸部全般に呼吸音は稍ゝ粗であるが副雑音は聴取しない。腹部は強度に膨隆しているが腹壁緊張並に腹水の徴候は証明せず鼓音を呈す。圧痛はない。

肝臓の下縁は2横指乃至2横指半程肋骨弓下に触知し得るが表面平滑，柔軟で辺縁は円味を帯びており，圧痛はない。腎臓，脾臓は触知し得ず，他に圧痛，腫瘤等の異常所見を認めない。四肢の知覚，運動機能には異常なく，腱反射は正常，浮腫は証明しない。

諸検査成績　1：尿は淡黄色透明で異常反応は証明せず。2：糞便は潜血反応陽性，鉤虫卵が陽性である。3：血圧は最高102，最低60を示す。4：心電図所見には低電位差を認める。5：出血時間は2分30秒，6：血液凝固時間は開始が1分，完結が5分30秒である（Sahli-Fonio 氏法）。7：赤血球抵抗検査では最小抵抗0.46％，最大抵抗0.32％，抵抗幅は0.14％である。8：肝機能検査では血清モイレングラハト値は3，ケファリン・コレステロール絮状反応は0，チモール溷濁反応は2，コバルト反応は R_5 で右へ陽性，グロス反応は1.45，高田反応は6である。9：肝生検像は第1図の如く略ゝ正常で

第1表　諸検査成績

1	尿	正常
2	糞便	潜血反応(卄)鉤虫卵(卄)
3	血圧	120/60
4	E. K. G.	低電位差
5	出血時間	2分30秒
6	血液凝固時間	開始1分，完結5分30秒（Sahli-Fonio 氏法）
7	赤血球抵抗検査	最小抵抗0.46％，最大抵抗0.32％
8	肝機能検査	M値：3，C. C. F：0 チモール反応：2，コバルト反応：R_5 グロス反応：1.45，高田反応6
9	肝生検像	形態学的略ゝ正常
10	梅毒反応	血液ワ氏反応(－)村田氏反応(－)
11	血清蛋白	総量5.95 g/dl（Al 2.97 g/dl, Gl 2.98 g/dl）
12	胸部X線像	肺野異常なし，心臓陰影左第4弓拡大
13	血沈	1時間50 mm，2時間90 mm
14	胃液	空腹時遊離塩酸度14，総酸度20
15	血液像	Hb：12％，R 104万，W 4200，（好酸球0，好中球67％，淋巴球32％，単球1％）Ht 8％
16	血清鉄量	9γ％
17	血清鉄負荷試験（経口的）	空腹時9γ％，負荷後2時間138γ％ 4時間212γ％，6時間153γ％
18	骨髄穿刺	赤血球系正赤芽球増加（好塩基球25％，好酸球8.2％）有核細胞数165000



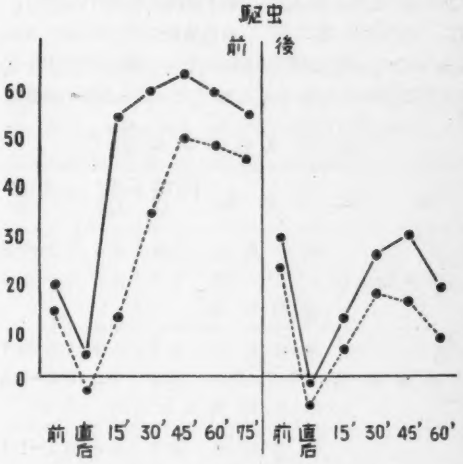
第1図　肝生検像

ある。10：血清ワッセルマン氏反応，村田氏反応は共に陰性である。11：血清蛋白量は総量が 5.95 g/dl で，その各分劃はアルブミンが 2.97 g/dl，グロブリンが 2.98 g/dl（α-グロブリン 0.66 g/dl，β-グロブリン 1.33 g/dl，γ-グロブリン 0.99 g/dl）である。12：胸部X線像では肺野に異常なく，心臓陰影左第4弓の拡大を認める。13：血沈は1時間値 50 mm，2時間値 90 mm である。14：胃液検査では空腹時遊離塩酸 14，総酸度 20 で，カフェイン法により最高遊離塩酸は 50，総酸度は 62 となる。15：血液検査では血色素量 12 %，ヘマトクリット値 8 %，赤血球数 104 万，色素指数は 0.58 である。白血球数は 4200，その百分率は好酸球 0，好中球 67 %（桿状核 7 %，分葉核 60 %），淋巴球 32 %，単球 1 %，好塩基球 0 である。網状赤血球数は 32 ‰である。16：血清鉄量は早朝空腹時にて 9 γ %である。17：血清鉄負荷試験では空腹時に 9 γ %がグルコン酸第一鉄 1.0 g 経口投与にて2時間後に 138 γ %，4時間後に 212 γ %を示し，6時間後には 153 γ %にまで下る。18：骨髄穿刺所見では赤血球系の好塩基性並に好酸性の正赤芽球が夫々 25 %，8.2 %に増加している。尚骨髄有核細胞数は 165000 である。

以上の所見を小括するに，入院時の一般理学的所見にて強度の貧血があると診て早速諸検査の結果，高度の低色素性貧血であることを確め，糞便中に多数の鈎虫卵を認めて鈎虫による貧血であると考えた。而して，他に内臓諸疾患を認めず，且つ血液検査，骨髄穿刺所見，胃液検査，血清鉄測定並に血清鉄負荷試験等に依り，再生不良性貧血，悪性貧血，胃液欠乏性貧血等を否定し，鈎虫による鉄欠乏性低色素性貧血であると診断して諸検査の成績を参照し乍ら之が治療に当つた。尚血液検査に於ける好酸球の消失については後述する。

治療並に経過　先づ入院後第 18 病日迄毎日保存血液を 100 cc 宛輸血し，第 16 病日より第 24 病日までの9日間は銅鉄丸 15 錠宛を内服，第 25 病日より第 30 病日迄の6日間はチョコラB鉄錠 15 錠宛を内服し，第 31 病日よりは硫酸銅 0.003 g を投与しそれと共にグルフェリコンを一筒宛毎日静注を施行した。而して第 37 病日目に第1回目の鈎虫駆除を行い，オーミン 4.0 g を2回に分服し後下剤に硫苦 15.0 g を投与した。又第 58 病日目に第2回目の駆虫を前回と同様の方法にて施行して完全に駆除した。更にグルフェリコンの静注を継続して第 80 病日目に軽快退院した。

その間胃液検査，血液検査，血清鉄量測定及び血清鉄負荷試験，骨髄穿刺所見の成績の経過をみるに次に示す如き結果を得た。



第2図　胃液検査所見（カフェイン法）

1. 胃液検査（第2図）　駆虫前の空腹時遊離塩酸は 14，総酸度は 20 で，カフェイン法により最高遊離塩酸は 50，最高総酸度は 62 を示しているが，駆虫後のそれ

第2表　血　液　所　見

月日	8/VII	13/VII	12/VIII	17/VIII	7/IX	19/IX
血色素量	12%	14	31	46	44	50
赤血球数	104万	120	146	295	192	280
色素指数	0.58	0.58	0.99	0.79	1.10	0.89
白血球数	4200	5200	6200	6200	3200	4650
白血球百分率　好塩基球	—	—	—	—	—	—
好酸球	—%	4	6	6	1	1
好中球　単核	7%	3	4	4	2	3
II核	33%	18	13	21	43	21
III核	24%	26	32	26	27	30
IV核	3%	3	6	3	2	3
V核	—%	1	1	—	—	—
計	67%	51	56	54	74	57
淋巴球　大	6%	4	3	3	3	5
小	26%	38	28	33	15	28
計	32%	42	31	36	18	33
単球	1%	3	6	4	7	9
網状赤血球	32‰	34	56	54	31	52
備考	輸血	鉄剤 輸血	駆虫 鉄剤	〃	グルフェリコン	〃

は夫々22と30, 16と25で稍ゝ低酸となつている。

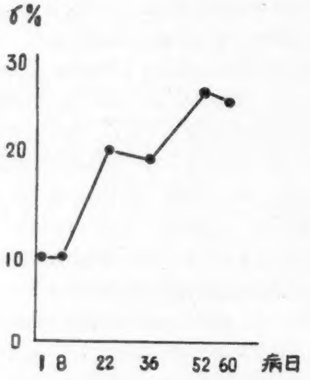
2. 血液検査(第2表) 血色素量に於ては12%から50%までに，赤血球数では104万から280万までに，而して色素指数は0.58より0.89まで，即ち高度の貧血より中等度の貧血までに徐々に恢復をみせている。尚好酸球が減少している。

3：骨髄穿刺所見（第3表） 赤血球系の好塩基性並に好酸性の正赤芽球が夫々25%，2.5%に増加しているが，駆虫後にても夫々20.6%，8.4%で著変を認めない。

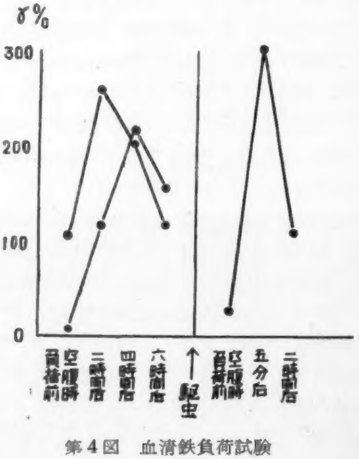
4：空腹時血清鉄量(第3図) 入院当初は9γ%であつたのが退院時には26γ%までに増加している。

第3表 骨髄穿刺所見

	骨髄芽細胞		10/VIII %	14/IX %	正常値 %
白血球系	前骨髄細胞	中性好性	0.8	0.4	0.2〜2.9
		エオジン好性	2.2	2.6	1.5〜8.4
		塩基好性	—	—	—
	骨髄細胞	中性好性	3.2	2.8	1.0〜9.7
		エオジン好性	0.2	0.2	0.3〜0.9
		塩基好性	—	—	—
	後骨髄細胞	中性好性	0.2	0.4	0.1〜1.1
		エオジン好性	—	—	—
		塩基好性	4.0	1.6	3.6〜14.6
	桿状核白血球	中性好性	0.8	8.2	10.6-24.6
		エオジン好性	0.8	0.6	0.1〜1.8
		塩基好性	—	—	—
	分葉核白血球	中性好性	36.8	17.4	8.5〜33.2
		エオジン好性	1.2	2.0	0.3〜6.1
		塩基好性	—	—	—
	単核細胞		0.4	0.2	
	淋巴球		2.2	11.4	5.0〜32.6
	原赤芽細胞				
赤血球系	巨赤芽細胞	塩基好性	—	—	0〜0.14
		多染性	—	—	—
		酸好性	—	—	—
	大赤芽細胞	塩基好性	1.6	1.2	0,5〜2.3
		多染性	0.2	0.2	0.1〜5.1
		酸好性	—	—	0〜0.4
	正赤芽細胞	塩基好性	25.0	20.6	0〜4.4
		多染性	5.0	19.8	4.0〜24.0
		酸好性	8.2	8.4	0.1〜5.3
	核分割像		0.4	1.2	0〜1.3
	骨髄巨核細胞		0.4	—	0〜0.1
	形質細胞		0.8	0.6	0.2〜1.1
	有核細胞数	165000			



第3図 空腹時血清鉄量



第4図 血清鉄負荷試験

5. 血清鉄負荷試験(第4図) 入院時の経口的鉄負荷の場合では負荷前が9γ%，負荷後4時間で218γ%までに増加し，6時間後に153γ%までに下降している。又駆虫後の経静脈的鉄負荷の場合では負荷前が26γ%，

負荷後5分で306γ%となり，2時間後に107γ%までに下降している。

以上の成績を小括するに，1：胃液検査にては，駆虫前より駆虫後の方が稍ゝ低酸を示している。2：血液検査では，高度の貧血より中等度の貧血までその恢復を認める。3：骨髄穿刺所見にては，駆虫前後の検査所見に余り変化を認めない。4：血清鉄量は，大体血液検査によつて認められる貧血の恢復に従つて徐々に増加している。5：血清鉄負荷試験にては，第1回目は経口的に，第2回目は経静脈的に鉄を負荷せるため駆虫前後の比較が出来ないが何れも鉄の利用率の大なることが認められる。そして全般に貧血は恢復の方向に徐々に変化していることが判る。

排出虫体の分類並に駆虫の実状

さて本患者の2回に亘る鉤虫駆除に際して合計実に639隻の鉤虫体の排出を見たのでその駆虫の実態並に虫体の鑑別及び体長測定の結果を次に示す。先ず

第4表：第1回目の駆虫にて排出された虫体の総数は608隻で第2回目は31隻であり，95%，5%の割合で

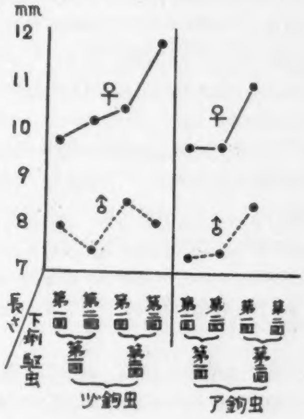
第4表 排出虫体分類

		ヅ鉤虫			ア鉤虫			合計
		♂	♀	小計	♂	♀	小計	
第一回駆虫	第一回下痢	203	245	448	20	44	64	512
	第二回下痢	41	49	90	4	2	6	96
	小計	244	294	538	24	46	70	608
第二回駆虫	第一回下痢	8	10	18	3	5	8	26
	第二回下痢	3	2	5	—	—	—	5
	小計	11	12	23	3	5	5	8
合計		255	306	561	27	51	78	639

第1回目が遙かに多い。

その中ヅ鉤虫が561隻，ア鉤虫が78隻で88%：12%の割合でヅ鉤虫の方が大多数である。又夫々の雌雄別ではヅ鉤虫に於ては雄が255隻，雌が306隻でその比は45%：55%，ア鉤虫の場合は雄が27隻，雌が51隻でその比は35%：65%であり何れも雌の方が多い。又2回の駆虫に際し何れの場合も2回の下痢にて終り後の便中には虫体を認めなかつたので，第1回目の下痢便中に排出された虫体数と第2回目のそれとを比較するに，第1回目の駆虫時は512隻に対して96隻，第2回目の時は26隻に対して5隻で，何れも84%：16%の割合で第1回目の下痢便中に圧倒的に多数の虫体が排出されている。

第5図：次に夫々の虫体の体長を測定して夫々の場合を検討してみたところ，その平均体長をみるに何れの種類に於ても又雌雄何れの場合も，第1回の駆虫時より第2回の駆虫にて排出された虫体の平均体長が大である。



第5図 虫体の平均体長

以上を小括するに，1：2回の駆虫に際し排出虫体数は第1回目の駆虫時に遙かに多く，且つ最初の便に排出されるものが多い。2：又ヅ鉤虫の方が大多数を占めており，3：雌雄別では2回共，何れの種類に於ても雌の方が稍ゝ多い。4：又第1回目の駆虫にて排出された虫体よりも第2回目の駆虫にて排出された虫体の方が一般に大きい。

総括並に考按

以上を総括するに

1) 自覚的に貧血の症状を主訴としている。

2) 他覚的にも貧血症状を呈している。

3) 血液検査にて高度の低色素性小赤血球性貧血である。

4) 血清鉄量が非常に少い。

5) 血清鉄負荷試験にては鉄吸収の遅延を認めるが鉄の利用率は良好である。

6) 骨髄穿刺所見より赤血球系有核細胞の増殖を認める。

7) 胃液検査にては駆虫前は胃酸過多を呈していたが駆虫後は正酸に近くなつた。

8) 各種検査にて他の内臓諸疾患を認めない。

9) 鉄剤投与並に駆虫にて諸検査成績の好転と共に一般状態の著しい恢復をみた。

10) 検便にて鉤虫卵を認め駆虫により総計639隻(ヅ鉤虫561隻, ア鉤虫78隻)の鉤虫を排除した。

以上の所見より本患者の診断には, 全身倦怠, 心悸亢進, 眩暈, 顔面蒼白, 他覚的に心の収縮期雑音, 独楽音等の所見より貧血の存在が疑われ, 又赤血球数104万, 血色素量12%, ヘマトクリット値8%であることより高度の貧血症であることは確実である。その他内臓々器に著変なきを以て本患者の病名は重症貧血症と断定して支障なきものと考える。

然らばかゝる重症の貧血は何か。先ず前記所見より低色素性小赤血球性貧血であり, 胃液酸度の高いこと, 網状赤血球数の多いこと, 骨髄所見から胃液欠乏性貧血, 悪性貧血及び再生不能性貧血を否定することが出来る。又造赤血球系の明らかな増殖を見, 赤血球再生機能の盛なることより, 出血等の原因による二次性貧血が考えられる。

更に本患者では糞便中に多数の鉤虫卵を証明し, 之を駆除して総数639隻(うちヅ鉤虫561隻, ア鉤虫78隻)の鉤虫を排出しており, そのため貧血所見は著しく軽快している。かゝる点より本患者の貧血は, 鉤虫性貧血で特有の鉄乏性貧血であると考えていゝのではないか。

鉤虫多数寄生に就ては, 主としてア鉤虫を挙げて永吉の集計があるが, ヅ鉤虫多数寄生に関してはその詳細なる報告は極めて少い。

本症例の諸症状が極めて重症であつたことは, 大部分がヅ鉤虫であつたことにより理解される。即ちヅ鉤虫はア鉤虫に比して遙かに病原性が強いためである。他にこの様な重症例の報告が余りないことは, 何れも病原性の弱いア鉤虫の多数寄生せる場合であろうと推察する。永吉氏がヅ鉤虫の病原性がア鉤虫のそれに比して1.0:5.1の割合に強いと記している所以であろう。又氏は鉤虫の貧血等の病害に対する限界寄生数がア鉤虫は2400隻に対してヅ鉤虫は500隻であると言つている所からみて, 本患者のヅ鉤虫は既にその限界寄生数に達し且つそれ以上であるために上記の如く生命に危険を感ずる程の重症症状を呈したものと考えられる。

さて本患者は血液検査にて好酸球が始め0で後に4〜6%になつている事であるが, 鉤虫症では好酸球の増加を認める事が最も多いが必ずしも寄生虫数や貧血の程度と等しい相関があるとは言えない。又貧血の高度な場合には時に無酸症や *Aeosinophile* を認めることがあるのは我々も間々見るところである。

又本患者に於ける胸内苦悶, 四肢の痙攣であるが, 入院後は殆どかゝることを認めていないが, 重症の貧血の場合脳皮質又は心の血行に障害を来しかゝる症状も発生し得ると考えてよい。又心電図の低電位差なることは之を証する一端であろう。

次で鉤虫貧血の本態であるが, 勿論この症例で断ずることは殆ど不可能であるが, 糞便の潜血反応陽性, 骨髄穿刺所見, 鉄代謝の状態より, 出血が大いなる因子をなすものであると考えている。本症貧血の成因に関しては未だに中毒説が最も有力に支持されているがその中毒物質の純粋なる抽出は現在不成功である。勿論, 鉤虫体の新陳代謝物質の吸収も当然考えられるし, 又虫体による催貧血性も承認されているところであるが, 岩田, 西, Wells 等の唱える如く本症貧血の主因は出血によるものではないかと考える。

駆虫の実状に関しては

1) 2回の駆虫の中第1回目の駆虫にてその95%までが排出された。

2) 駆虫の際第1回の排便でその大部分が排出された。

3) 第2回目の駆虫にて排出された残りの5%の虫体が第1回目のに比して一般に大きかつた。

そして之の数値のみにて考えるのは早計かも知れないが, 第2回目の駆虫にて排出された残りの5%の虫体が何故第1回目に排出されなかつたかということを考えるに, 虫体の大きさと何かの関係があるものと考え, 之は更に腸内に於ける鉤虫の寄生状態, 薬品の作用効果等よりかみ合せて考える時, 教室の三浦等が研究中の犬腸管内の犬鉤虫の寄生数, 虫体の大きさ, 腸壁咬着状態との関係等についての成績よりみれば, 腸の上部には平均に大きく成長した虫体が寄生しており, 又大きい鉤虫程よく腸管壁に咬着しており, 一方薬品に対して抵抗強く且つ薬品は腸の上部は通過が早いため充分に効果を現わさない時があるためではなかろうかと愚考している。この点に関し更に種々検討を加えて報告したいと思つている。

結　語

2回のオーミンによる駆虫の結果639隻(うちヅ鉤虫561隻, ア鉤虫78隻)の鉤虫体を排出した重症貧血患者の1例につき, その病態並に駆虫の実状につき報告した。

擱筆に臨み御指導, 御校閲を賜りたる岩田教授に深く

感謝します。

参考文献

1) 永吉康祐 (1954)： 自然感染の鈎虫多数寄生例の考察，特に感染経路の問題と鈎虫寄生数及び限界寄生数について，衛生動物，IV (特別号)，101-113. —2) 江口季雄・三好勝 (1950)： 鈎虫症の病理解剖所見，日本病理学会誌，39 (地方会号)，228-229. —3) 河合五郎 (1926)： チモールの偉効，内外治療，1 (5)，100-101. —4) 高田義一郎 (1936)： 十二指腸虫の数，大阪医事新誌，7 (3)，438-439. —5) 宮川米次 (1955)： 十二指腸虫の最高駆虫数，質疑応答集，内科篇 (寄生虫症)，103. —6) 緒形一保 (1953)： 鈎虫症のブロムナフトール十二指腸ゾンデ療法，南大阪病院医学，1 (1)，12-15. —7) 岩田繁雄・中村逸朗・三浦梧樓・緒形一保 (1953)： 鈎虫駆除剤の研究，大阪医科大学雑誌，14 (1)，25-31. —8) 岩田繁雄・中村逸朗・三浦梧樓 (1954)： 1ブロム・2ナフトールによる鈎虫集団駆虫試験，新薬と臨床，3 (5)，261-271. —9) 岩田繁雄 (1953)： 鈎虫症の新治療法，日本医事新報，1543，109. —10) 中尾喜久・島正久・豊倉康夫・衣笠恵士・前川正・大森輝夫 (1953)： 鈎虫症貧血に関する研究，日本内科学会雑誌，42 (1) 23-30. —11) 西山文雄 (1942)： 十二指腸虫病に因る再生不能性貧血の一例，軍医団雑誌，351，1208-1212. —12) 伊藤宗文 (1954)： 二，三の内科的疾患に於ける血清鉄，血清銅とその消長，日本内科学会雑誌，43 (4)，15-22. —13) 三浦梧樓 (1955)： 鈎虫寄生犬の腸内に於ける鈎虫の寄生状況と形態とについて，日本寄生虫学会西日本支部第 11 回大会講演抄録，49.

Summary

Various examinations and treatments were made for a patient who was hospitalized with main complaints of limb convulsions, chestpain and severe anemia.

After several examinations, he was diagnosed as hypochromic-microcytic irondeficit anemia, and it was further confirmed that the anemia had been caused by parasitism of hookworms.

Since then, his anemia had been treated both by transfusion of blood and by medication of iron-preparation and vitamines, while extermination of the hookworms was accomplished by dosage of *Wormin*.

As the result, with the favorable turn of his general condition, he made a remarkable recovery from the anemia and a total number of 639 hookworms (561 *Ancylostoma duodenale* and 78 *Necator americanus*) was eliminated from the system.

With further satisfactory progress thereafter, he was released from the hospital.

The above case is reported herein on our observation of the cause of anemia and the extermination of hookworms.

会　記

昭和30年度は6万円，昭和31年度は8万円と給付されていた文部省研究成果刊行補助金が，本年度は停止する旨，文部省から連絡がありました。これは他の学会も同様でありますが，学会の会計状況も多難となつてまいりましたので，学会費の納入は速やかにお願いいたします。

(安羅岡一男記)

本年3月に刊行しました吸虫類文献集について追加及び訂正をいたしたいと存じますので御気附きの点がありましたら学会編集係宛に御知らせ下さい。

(鈴木了司記)

会員移動

新入会

北野訓敏　東京都文京区向ヶ岡彌生町　東京大学農学部家畜内科学研究室

高塩満男　東京都文京区向ヶ岡彌生町　東京大学農学部家畜内科学研究室

利岡静一　東京都中野区本町通6の28

熊谷謙三郎　大阪市西区江戸堀上通2の42　金原商店大阪出張所

増山忠俊　名古屋市中区南外堀町6の1　愛知県庁構内愛知県衛生研究所

志々目享　宮崎県北諸県郡山之口町

住所変更

竹山治　兵庫県尼崎市武庫川町1の23

武田勝美　新井浜市金子　住友別子病院内科

赤尾宏一郎　埼玉県北足立郡吹上町　町立吹上病院

三浦剛　福岡市堅粕　九州大学医学部附属病院小児科学教室

宮川三男　熊本県荒尾市　市立病院

大島康臣　長崎県南高来郡愛野町　長崎県農業試験場愛野試験地

蟯虫検査成績特に婦人に於ける感染状況

村　重　武　次
山口県立医科大学病理学教室（指導　細川修治教授）

（昭和32年2月30日受領）

緒　言

蟯虫はその生物学的特異性から一般の検便法による虫卵発見は非常に困難で，従来の検便成績の報告は，極めて低率である。然し最近肛門周囲から虫卵を検出する方法が種々考案されて，それによる検査成績が各地から報告されている。然し乍ら，いずれも肛門検査の行い易い幼小児の成績が多く，成人の場合では主に男性に限られ，幼小児と密接な関係を有する女性に関しては殆んど見当らない。

私は最近18歳から50歳迄の婦人に，セロハン・テープ法による検査を実施したので，その成績を報告する。

検査対象及び検査方法

被検婦人は小野田市某病院産婦人科に於て，昭和31年5月より8月迄の外来患者で，診療時間午前9時より午前11時迄に来院せる者120名について，及び小野田市某炭鉱社宅で，昭和31年6月21日より10日間の57名と，そのうちの24家族の成人男子，幼小児の78名について，早期起床時（午前5～6時）に検査した。方法としては，セロハン・テープを用いた。即ち幅1.2cmのものを長さ3.0cmに切り，肛門周囲，会陰，膣入口部に夫々平行に，幼小児と成人男子には肛囲のみに貼布し，それらをとりはづして載物ガラスにはりつけ，当日鏡検した。検査回数が唯1回であるため，不充分のそしりは免れないが，相互の比較及び蔓延状況を知る上には充分であろうと思われる。

検査成績及び考按

外来患者120名中陽性者51名42.5%，炭鉱社宅婦人57名中36名63.1%の陽性率を示し，後者の方が高率であるが，これは検査時刻が早朝であると云うことに起因するほか，炭鉱社宅居住と云う条件，即ち住宅は長屋式の一棟が8家族で，浴場，便所，水洗場は総べて共同使用であると云う事も考慮に入れねばならぬと思う。

私の検査は1回であるが，夜間或は早朝排便排尿前に数日間数回の検査を行えば，本検査成績を可成り上廻る数値が得られるのではないかと想像される。

諸家の報告と比較すると，篠崎(1957)は松山市で外来妊婦63名に，セロ・テープ法を行い，33.3%の陽性率を示して居り，私が得た外来患者の成績42.5%とほぼ等しく，星等(1951)は東京都内でScotch-tape法により，大人111名検査し男子22.5%，女子40%に蟯虫卵を証明している。山口等(1952)は久留米市附近の調査で，大人の約半数49.5%に，栗林等(1955)は兵庫県に於てJacobs氏Scotch-tape法による成人男子3335名の調査で24.3%に認め，鉤虫駆除に際して得られた蟯虫体の排出率は44%と言う。横田は京都府，福井県で，Scotch-tape法連続5回により大人41.5%，川本(1953)は京都市で監察解剖屍体33例(20～60歳)の大腸を検して蟯虫体を81%に認め，宇治市に於て24名の鉤虫濾糞に際して，75%と云う蟯虫体の検出を見ている。私の行つたのはセロハン・テープ法であるが，Scotch-tape法とほゞ等しいか，或は稍ゝ高率を示しているが，監察屍体，鉤虫濾糞による虫体排出率にくらべると低率である。

1）検査部位による成績

第1表に示す如く両群とも肛門周囲の検出率が最も高く，次に会陰部，膣入口部の順となり，肛門を遠く離れるに従つて検出率が低くなる。これは篠崎(1957)の報告と一致する。膣入口部及び会陰部陽性のものは，殆んど肛門周囲も陽性である。然し肛囲陰性で会陰部のみ陽性のものは，外来患者の場合3例，炭鉱社宅婦人の場合2例，及び膣入口部のみ陽性のもの各々1例，会陰部膣入

TAKEJI MURASHIGE: The examination of *Enterobius vermicularis*, espicially, on the infection's state among the women (Department of Pathology, Yamaguchi Medical School, Ube)

第1表 部位による検査成績

部位	外来患者(小野田市)			炭鉱社宅婦人(小野田市)			外来妊婦(松山市篠崎氏報告)		
	検査人員	陽性者数	陽性率(%)	検査人員	陽性者数	陽性率(%)	検査人員	陽性者数	陽性率(%)
肛門周囲	120	46	38.3	57	32	56.1	63	21	33.3
会陰部	120	35	29.1	57	29	50.8	63	10	15.9
膣入口部	120	15	12.5	57	18	31.5	63	8	12.7

口部とも陽性で肛囲陰性のもの各々例を認めた。従つて婦人の蟯虫診断に当つては，膣入口部会陰部の検査も或程度必要ではなかろうかと考えられる。

2) 年齢別による検査成績

第2表に示す通り，年齢の増加するに従つて減少するのではなくて，両群とも25歳以下には検出率低く，26〜30歳に至り次第に上昇し，31〜40歳で最高になり，41〜45歳より漸次減少の傾向を示している。私の検査対象

第2表 年齢別による検査成績

年齢	外来患者			炭鉱社宅		
	検査人員	陽性者数	陽性率	検査人員	陽性者数	陽性率
18〜20歳	8	2	25.0%	0	0	0
21〜25歳	28	7	25.0%	8	4	50.0%
26〜30歳	26	9	34.6%	14	9	64.2%
31〜35歳	26	18	69.2%	13	10	76.9%
36〜40歳	20	10	50.0%	8	7	87.5%
41〜45歳	9	4	44.4%	4	2	50.0%
46〜50歳	3	1	33.3%	10	4	40.0%
計	120	51	42.5%	57	36	63.1%

は主に婦人であつたため，成人男子の寄生率と比較することは出来なかつたが，栗林等(1955)の成人男子の成績は，20〜29歳16%，30〜39歳21.7%，40〜49歳26%，50〜59歳6.8%，60〜69歳0%で，30歳台になると稍ゝ上昇し，40歳台で最高となり，50歳台以上になると急激に減少している。これと婦人の場合とを比較して見ると，婦人では30歳台に検出率が高く，男子では40歳台に高いと云うことになり，年齢的に可成りの差を認めるが，これは夫婦の年齢差は普通一般には，少くとも2〜8歳の開きを以つて，女が男よりも若いと云うことによるものと思つて差支えなかろう。又如何なる理由を以つて，25歳以下に少く，26〜30歳で上昇し，31〜40歳で最も高くなり，以後次第に減少するかは，次の検査成績で裏付けられると思われる。

3) 保有児数による検査成績

第3表の如く，外来患者の場合に於ては，子供のいない婦人では13.1%で最低で，1児の場合はその約2倍，2児，3児になると夫々約3倍，4倍，4児以上約5倍の検出率となる。即ち保有児数の多いもの程検出率が高い。然し炭鉱社宅婦人の場合には，2児迄は殆んど大差なく，3児以上になると稍ゝ上昇して来る。これは先にも述べた通り，炭鉱社宅居住と云う条件の然らしむるためだろう。

第4表 家族の検査成績

婦人成績	検査人員		陽性者数	陽性率
陽性	15家族	76名	61名	80.2%
陰性	9家族	26名	7名	26.9%
合計	24家族	102名	68名	66.6%

前項に於て私は31〜40歳の婦人に蟯虫卵の高度検出率を得たが，この最も大きな原因は，此の年齢層になると幼小児を保有する率が多くなり，然も幼小児の年齢が，松崎・細川等(1949)が寄生率が高いと報告している年齢，即ち8〜10歳の年齢に近づいている場合が多いためと考えられる。

4) 家族の検査成績

炭鉱社宅婦人57名中24名の家族102名(24名を含む)についての成績は第4表の如く，66.6%の陽性率

第3表 保有児数による検査成績

児数	外来患者			炭鉱社宅		
	検査人員	陽性者数	陽性率	検査人員	陽性者数	陽性率
0人	22	3	13.1%	5	3	60.0%
1	19	5	26.3%	10	6	60.0%
2	35	14	40.0%	16	9	56.3%
3	20	12	60.0%	11	7	63.6%
4人以上	24	17	70.8%	15	11	73.3%

である。そのうち婦人陰性の9家族29名の陽性率は26.9％であつたが，婦人陽性の15家族76名では80.2％と云う驚くべき陽性率を得た。蟯虫感染には幼小児が重要な役割を演じていることは明らかであり，異論はないが，然し母親から乳幼児へと感染する機会も，しばしば起り得るものと思う。そして蟯虫絶滅の困難さを痛感する次第である。

結　論

私は小野田市に於て，某病院産婦人科外来患者120名及び某炭鉱社宅婦人57名について，セロハン・テープ法1回の検査を行い，次の成績を得た。

1）外来患者42.5％，炭鉱社宅婦人63.1％の陽性率で検査時刻の早朝であつた後者の分が高率であつた。

2）部位による検出率は，肛囲，会陰部，膣入口部の順であり，膣入口部及び会陰部陽性のものは殆んど肛囲も陽性であつたが，肛囲陰性の場合もあつた。

3）年齢的には，26～30歳より漸次上昇し，31～40歳で最高となり，41～45歳より漸次減少の傾向があり，然も保有幼小児数の多い婦人に陽性率の高いことを認めた。

4）婦人陽性の家族は，陰性の家族にくらべて，遙かに高い陽性率であることを認めた。

終りに臨み，恩師細川修治教授の御指導，御校閲を感謝する。

本論文要旨は昭和31年11月，日本寄生虫学会西日本支部第12回大会で発表した。

主要文献

1）赤木勝雄（1952）：蟯虫について，日本寄生虫学会記事，21，13-16．—2）星直利・森崎新吉他（1951）：蟯虫の検査法とその寄生率並びにその治療について，臨床内科小児科，6（1），35-36．—3）川本脩二・伊藤和子（1955）：蟯虫症に関する研究 I，感染率について，医学と生物学，35（1），16-19．—4）川本脩二（1956）：蟯虫症に関する研究 V，感染率について III，性別の差，医学と生物学，40（2），61-65．—5）川本脩二（1956）：蟯虫症に関する研究 VI，スコッチ・テープ法の検討，医学と生物学，40（3），94-97．—6）川本真一・川本脩二（1952）：蟯虫症治療の一観察，日本寄生虫学会記事，21，74-75．—7）栗林海男・卜部昭他（1955）：兵庫県に於ける腸管内寄生虫調査．（第7報），掖済会医学雑誌，4（1），60-64．—8）小林晴次郎他（1955）：蟯虫症について II，臨床内科小児科，10（8），519-524．—9）松崎武雄・細川修治（1949）蟯虫の蔓延状況に就いて，日本学校衛生学会第2回学会講演抄録．—10）松田鎮雄（1951）：蟯虫症の生態 臨床内科小児科，6（1），37-38．—11）森下薫（1951）：最新寄生虫病学 I，医学書院，東京．—12）篠崎邦彦（1957）：妊産婦の腸内寄生虫に関する考察，第1篇，妊婦会陰部の寄生虫卵，山口医学，5（2），168-170．—13）上野節（1936）：産婦の寄生虫に関する観察，慶応医学，16（4），409-415．—14）卜部昭・三谷和合（1952）：京都市内某幼稚園に於ける蟯虫観察，日本寄生虫学会記事，21，71-72．—15）柳沢利喜雄・小平敬子（1952）：蟯虫の検査回数について，日本寄生虫学会記事，21．，73-74．—16）山口富雄・松尾栄一他（1954）：徳島県に於ける蟯虫の調査，医学と生物学，30（3），119-121．—17）横田穣・竹内覚他（1952）：蟯虫蔓延状況の調査（第2報），日本寄生虫学会記事，21，72-73．

Summary

One hundred twenty women (Group A) chosen from the gynecology and obstetrics clinic of a hospital in Onoda city, and 57 women (Group B) who lived in district of the coal-mine were examined. The Scotch cellulose tape swab method was employed in this survey.

The obtained results as follows:

1) The infestation of Enterobius in A group showed 42,5 and 63.1 per cent, respectively. The latter that examined in early morning showed higher infection than the former.

2) Three regions — the anal orifice, the perineal region and the vaginrl orifice — were examined. Among them, the anal orifice showed the highest infection. In the other region, some infection was recognized, also. Among those who was infected in both the vaginal orifice and the perineal region, were almost recognized infection in the anal orifice, but ony cases none.

3) On the age, the infestation in 26～30 age showed the tendency of increase gradually, and in 31～40 age group showed the highest. The infection in 41～45 age group showed the tendency of decrease gradually. Further more, in women who have many children showed more heavey infection than women less or a few children.

4) The infection in similar family with women infected Enterobius showed more heavey infection than in family without infection.

淺見敬三所藏

各種化学薬品の鉤虫仔虫に対する殺滅試験

（2） 駆虫剤および殺虫剤等による *in vitro* 試験

安　田　一　郎
国立予防衛生研究所寄生虫部

（昭和 32 年 3 月 7 日受領）

さきに私は，鉤虫の感染源としての鉤虫仔虫を殺滅する薬剤の検索をめざして，いわゆる殺卵剤の，イヌ鉤虫仔虫，ヅビニ鉤虫仔虫，およびアメリカ鉤虫仔虫に対するスクリーニング・テストを試験管内で施行し，芥子油，および亜硝酸ソーダが高稀釈液にても顕著な殺仔虫作用を呈することをみた(安田，1957)。

さて最近，駆虫剤と殺虫剤の分野でめざましい進歩が見られた。ところが殺虫剤の鉤虫仔虫殺滅作用については，佐野(1952)，および武田(1956)が報告しているのみで，系統的な，広範囲にわたる研究はなされていない。そこで私は前報にひきつづいて，駆虫剤，および殺虫剤等の，鉤虫仔虫に対する殺滅試験を *in vitro* で行つたから，ここに報告する。

実験方法

供試薬剤としては，次の九種を用いた。すなわちヘキシールレゾルシン，アスカロンT乳剤(ナガ製薬)，デリス乳剤（ロテノーン 2 %含有，三共)，DDT 乳剤(30 %，味の素)，BHC 乳剤（ガンマー体 10 %含有，大同除虫菊)，DN 乳剤(15 %，三井化学)，オボトラン乳剤(20 %，三井化学)，パラシモール，および硼砂。上記の中，アスカロンT乳剤というのは，パラシモール (p-Cymol) 90 %，アスカリドール 10 %の混合物*，DN 乳剤というのは，Dinitro-o-cyclohexyl phenol (DNOCHP) という化学式をもつた殺虫剤，オボトラン乳剤(Ovotran)というのは，K 6451 ともいい，p-Chlorophenyl-p-chlorobenzensulphate (CPCBS) という化学式をもつた，アカダニの殺虫，および殺卵剤，パラシモールは，p-Isopropyltoluene という化学式をもち，パルプ製造のさいの廃液である。本剤は駆虫剤でも，殺虫剤でもないが，この物質が殺仔虫作用をもつているかどうかを検討するために加えられた。また硼砂を加えたのは，Cameron および Parnell (1939) が 1 %の硼砂が鉤虫卵を殺卵することを指摘し，次いで Hoerlein (1950) が，土壌中のイヌ鉤虫仔虫を殺滅すると述べているので，本薬剤が *in vitro* でも殺仔虫作用を呈するかどうかを調べるために加えることにした。

供試薬剤の稀釈は水道水で行つた。ただしパラシモールは水に不溶なるため，薬剤 1 に対し，乳化剤エマルゲン(花王石鹸)を 4 の割に混入してから，水道水で稀釈した。

供試仔虫は，イヌ鉤虫仔虫，ヅビニ鉤虫仔虫，アメリカ鉤虫仔虫の 3 種であつた。

実験方法は前報(安田，1957)に報告したのと同一であるが，概略を示すと，培養した上記仔虫（年齢，培養後 7〜10 日）懸濁液を，上記供試薬剤稀釈液に浸漬（温度 30°C，10°C）し，浸漬後 1 日，3 日，7 日，14 日に鏡見し，生死合計 100 匹以上数え，殺滅率を算出した。

実験結果

1. ヘキシールレゾルシン： 本薬剤稀釈液は，第 1 表に示すように，三種鉤虫仔虫に対して殺滅効果を示す(第 1 表)。

イヌ鉤虫仔虫の場合は，第 1 表に示すように，有効限界濃度は，30°C 浸漬では，第 1 日，および第 3 日 8000 倍，第 7 日，および第 14 日 16000 倍，一方 10°C 浸漬では，浸漬第 1 日，第 3 日，第 7 日 8000 倍，第 14 日 16000 倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，30°C 浸漬は各濃度とも殺滅率は上昇している。しかし 10°C 浸漬では，32000 倍では，第 1 日と第 3 日の殺滅率の間に有意の差がない (χ^2=0.0505)。最後に，温度による殺滅率の差をみると，32000 倍浸漬第 1 日を除いて

ICHIRO YASUDA: The effect of various chemicals on the larvae of hookworms. (2) The *in vitro* test of anthelmintics and insectcides etc, (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo).

* アスカロンTはアスカロンとは異なる。後者はヘノポジ油原液を 43〜72°C で，減圧蒸溜したときえられるもので，Ascaridol 10 %，p-Cymol，l-Limonen，2-8-p-Menthadien の混合物である。

第1表 ヘキシールレゾルシンの殺滅率 (%)

	倍率	イヌ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	ヅビニ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	アメリカ鉤虫仔虫 1日	3	7	14
30度浸漬	4000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	8000	100	100	100	100	48.5	100	100	100	100	100	100	100
	16000	13.8	66.2	100	100	0.8	22.2	76.2	100	82.3	100	100	100
	32000	4.5	9.1	45.1	99.1	0	1.9	12.3	54.6	9.8	51.2	82.7	100
	対照	0	0	0	0	0	0	0.8	3.1	3.0	8.5	9.7	1.7
10度浸漬	4000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	8000	100	100	100	100	63.2	92.8	100	100	93.1	100	100	100
	16000	5.6	17.6	72.3	100	0.8	8.3	93.3	98.4	47.6	100	100	100
	32000	3.9	3.7	15.7	63.2	1.7	2.4	17.2	59.7	27.0	36.3	94.1	100
	対照	0	0.7	0	4.0	0.9	0	0	0	8.4	13.8	61.0	89.1

(χ^2=0.0329 で有意差がない)，高温の方が殺滅率が高い。

ヅビニ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C 浸漬では，浸漬第1日4000倍，第3日，第7日8000倍，第16日16000倍，10°C 浸漬では，浸漬第1日，第3日4000倍，第7日，第14日8000倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，8000倍，16000倍では，時間とともに殺滅率は増大しているが，32000倍第1日，第3日は，両温度とも殺滅率の増加はみられない（両者の殺滅率の間には30°C, 10°C とも，直接確率計算法で有意差がない)。最後に30°C 浸漬と10°C 浸漬の殺滅率の相違をみると，8000倍浸漬第1日は，低温浸漬の方が殺滅率が高く(その差は，χ^2=35.5236 で，1%以下の危険率で有意)，第3日は高温浸漬の方が殺滅率が高い(直接確率計算法で1%以下の危険率で有意)。また16000倍浸漬では，浸漬第1日，および第3日の両温度の殺滅率の間には相違がなく(前者は直接確率計算法で p=0.5001 で有意でなく，後者は χ^2=0.01836 で有意ではない)，第7日は低温浸漬の方が殺滅率が高く(χ^2=15.3830 で，1%以下の危険率で有意差がある)，第14日には両温度の殺滅率の間には相違はない（直接確率計算法でその差は有意でない)。最後に32000倍浸漬では，全浸漬期間を通じて，両温度の殺滅率の間に有意差がない。

アメリカ鉤虫仔虫では，有効限界濃度は，30°C 浸漬第1日8000倍，第3日，第7日16000倍，14日では32000倍でも100%殺滅しているが，それ以上の稀釈度では実験を行つていないから，正確な値はわからない。一方10°C 浸漬では，浸漬第1日4000倍，第3日，第7日16000倍である。第14日は32000倍でも100%殺滅を示している。なお10°C 浸漬第14日の対照の死亡率は89.1%であるが，これと前者との差は直接確率計算法で1%以下の危険率で有意であるから，寒冷のためだけで100%の殺滅率を呈したと考えることはできない。なお，30°C 浸漬と10°C 浸漬の対照の死亡率の間には，全浸漬期間を通じて，χ^2 検定で1%以下の危険率で有意の差がある。つまりアメリカ鉤虫仔虫は，10°C で浸漬したときは，30°C で浸漬したときより，多数の仔虫が死亡するわけである。

2. アスカロンT乳剤： 本薬剤稀釈液も3種鉤虫仔虫に対して殺滅効果を示す(第2表)。

イヌ鉤虫仔虫の場合は，第2表に示すように有効限界濃度は，30°C 浸漬では，浸漬第1日500倍，第3日，第7日，第14日2000倍である。一方10°C 浸漬では，浸漬第1日には，250倍では49.7%の殺滅率しか示さないが，第3日には250倍で100%殺滅している。浸漬第7日，および第14日の有効限界濃度はともに1000倍である。また全浸漬期間を通じて，各稀釈度とも30°C 浸漬の方が殺滅率が高い。

ヅビニ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C 浸漬では，浸漬第1日，第3日，第7日1000倍，第14日2000倍，10°C 浸漬では，浸漬第1日500倍，第3日1000倍，第7日，および第14日では2000倍である。次に浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，1000倍浸漬第1日には30°C 浸漬の方が殺滅率が高いが（直接確率計算法で1%以下の危険率で有意の差がある)，2000倍浸漬では，浸漬第1日には30°C 浸漬の方が殺滅

第2表 アスカロンT乳剤の殺滅率(%)

	倍率	イヌ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	ズビニ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	アメリカ鉤虫仔虫 1日	3	7	14
30度浸漬	250	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	500	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	1000	79.8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	15.3	100	100	100	73.1	74.2	93.1	100	100	100	100	100
	4000	16.7	40.4	64.1	93.2	0.8	15.9	9.0	24.3	96.3	100	100	100
	8000	6.8	6.3	13.5	33.5					46.4	94.8	87.8	99.2
	対照	0	2.2	4.5	0	0	0	0	0.8	0	0.7	5.8	5.8
10度浸漬	250	49.7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	500	19.5	97.8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	1000	7.5	17.1	100	100	67.3	100	100	100	85.2	100	100	100
	2000	6.8	15.2	44.1	100	12.1	69.1	100	100	63.8	99.2	100	100
	4000	1.6	10.0	18.5	33.7	2.8	35.0	56.1	92.1	24.1	95.6	100	100
	8000	0	1.8	4.0	5.8					36.6	82.4	95.3	100
	対照	0	0.7	0.8	0	0	0	0	0.9	0	0.7	11.8	25.9

第3表 デリス乳剤の殺滅率(%)

	倍率	イヌ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	ズビニ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	アメリカ鉤虫仔虫 1日	3	7	14
30度浸漬	1000	95.1	100	100	100	98.0	100	100	100	100	100	100	100
	2000	59.6	100	100	100	82.6	97.6	99.2	100	100	100	100	100
	4000	30.8	83.4	87.4	97.0	22.0	41.1	90.9	97.9	97.8	100	100	100
	8000	7.9	17.8	31.7	41.7	0.9	5.3	32.3	22.4	62.9	65.2	97.0	100
	対照	0.6	1.5	3.4	1.6	0	0	0	0	0	0	31.9	56.0
10度浸漬	1000	64.8	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	29.9	33.8	18.4	100	89.0	86.9	92.6	100	100	100	100	100
	4000	6.4	9.0	14.7	60.7	13.7	17.9	22.4	100	100	100	100	100
	8000	3.1	4.2	4.4	8.4	0.9	0	4.0	50.7	83.4	96.4	98.6	100
	対照	0.9	0.7	0.8	0.8	0	0	0	5.3	0	1.2	10.6	34.9

率が高く($\chi^2=92.74$で，1％以下の危険率で有意)，第3日には差違なく($\chi^2=0.7050$)，第7日は10°C浸漬の方が殺滅率が高い(直接確率計算法で1％以下の危険率で有意の差がある)。また4000倍浸漬では，浸漬第1日は差違なく，第3日，第7日，第14日には，10°C浸漬の方が殺滅率が高い(χ^2検定で1％以下の危険率で有意の差がある)。

アメリカ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C浸漬では，第1日2000倍，第3日，第7日，および第14日4000倍である。一方10°C浸漬では，第1日500倍，第3日1000倍，第7日4000倍である。第14日は8000倍でも100％の殺滅率を示している。

3. デリス乳剤： 本薬剤稀釈液も三種鉤虫仔虫に対して殺滅効果をもつ(第3表)。

イヌ鉤虫仔虫においては，30°C 1000倍浸漬第1日には，95.1％の殺滅率を示すが，第3日には2000倍溶液において100％の殺滅率を示す。しかし4000倍では，83.4％である。したがつて，その有効限界濃度は，第3日には2000倍である。また第7日，および第14日でも2000倍である。一方10°C浸漬，1000倍，浸漬第1

日には，殺滅率は64.8％であるが，第3日に100％の殺滅率を示す。なお有効限界濃度は，浸漬第7日1000倍，第14日2000倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，30°C 浸漬では，4000倍浸漬第3日と，第7日の間には，殺滅率の上昇がない(第3日，83.4％，第7日，87.4％で，その差は χ^2 検定で有意でない，$\chi^2=0.9384$)。また10°C 浸漬2000倍では，第1日29.9％，第3日33.8％，第7日18.4％となつているが，第1日と第3日の殺滅率の間には有意の差がなく($\chi^2=0.5095$)第3日と第7日の殺滅率の間には2％以下の危険率で有意の差がある($\chi^2=7.9087$)。すなわち，第1日と第3日の間には殺滅率の上昇はないが，第3日と第7日の間には逆に低下がある。最後に，高温浸漬と低温浸漬の殺滅率の相違をみると，全浸漬期間を通じて，各稀釈度とも，高温浸漬の方が殺滅率が高い。

ヅビニ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C 浸漬では，第1日は1000倍以下であるが，第3日，第7日は1000倍，第14日は2000倍である。一方10°C 浸漬では，第1日，第3日，第7日は1000倍，第14日は4000倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，30°C浸漬2000倍では，浸漬第1日と第3日の間には上昇がみられるが，第3日と第7日の間には上昇はみられない($\chi^2=0.3527$)。一方10°C 浸漬では，第1日，第3日，および第7日の間に殺滅率の上昇はみられない（第1日と第3日の殺滅率の差は，χ^2 検定で，$\chi^2=0.2378$，第3日と第7日のそれの差は，$\chi^2=2.6211$ で，ともに有意の差がない)。また4000倍浸漬第1日，第3日，第7日の間に殺滅率の上昇はみられない（第1日と第3日の殺滅率の差は χ^2 検定で，$\chi^2=0.9551$，第3日と第7日のそれは，$\chi^2=0.9465$ で，ともに有意でない)。最後に高温浸漬と低温浸漬の殺滅率の相違をみると，1000倍浸漬第1日，2000倍浸漬第1日，8000倍浸漬第1日を除いて，高温浸漬の方が殺滅率が高い。

アメリカ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C浸漬第1日には2000倍，第3日，第7日は4000倍である。なお浸漬第14日は，8000倍でも100％殺滅を示している。一方10°C 浸漬では,第1日,第3日，第7日は4000倍である。また第14日では，8000倍でも100％殺滅を示している。次に浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，8000倍浸漬第1日，第3日とも，低温の方が殺滅率が高い（第1日における殺滅率の差は，$\chi^2=14.7908$ で，1％以下の危険率で有意，また第3日のそれは $\chi^2=36.0908$ で，1％以下の危険率で有意)。

4. DDT 乳剤： 本薬剤も三種鉤虫仔虫に対して殺滅作用をもつ(第4表)。

イヌ鉤虫仔虫の場合は,有効限界濃度は，30°C 浸漬では，全浸漬期間を通じて1000倍である。一方10°C 浸漬では，浸漬第1日では，1000倍以下であるが，第3日，第7日，第14日では，1000倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，2000倍，第1日99.0％，第3日90.8％で，その差は χ^2 検定で2％以下の危険率で有意である($\chi^2=6.0997$)。すなわち第3日には殺滅率が低下している。また第7日は100％であるが，これと第3日の殺滅率の間には直接確率計算法で1％以下の危険率で有意の差がある。つまり第7日には殺滅率は増加している。ところが浸漬第14日には98.1％となつている

第4表 DDT 乳剤の殺滅率（％）

	倍率	イヌ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	ヅビニ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	アメリカ鉤虫仔虫 1日	3	7	14
30度浸漬	1000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	99.0	90.8	100	98.1	100	100	100	100	100	100	100	100
	4000	2.3	5.6	33.0	20.6	80.8	18.7	9.2	12.0	97.9	87.5	68.0	69.7
	8000	0	0	19.3	4.7	0.5	6.0	5.6	4.2	33.1	79.8	55.6	7.7
	対照	0	0	9.1	0.6	6.3	3.4	3.3	0.7	4.6	2.8	0	5.8
10度浸漬	1000	96.0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	37.5	83.8	22.7	79.3	99.2	97.5	87.5	89.3	100	100	100	100
	4000	0	0	1.4	5.1	64.3	7.0	8.6	18.6	73.2	72.6	78.9	87.0
	8000	0.6	0	0.6	1.6	5.4	5.3	4.5	18.4	0.4	0.7	1.2	64.2
	対照	4.4	2.3	5.8	1.7	1.5	2.3	3.5	3.6	1.0	23.8	96.8	69.0

が，これと第7日の殺滅率の間には，直接確率計算法で2％以下の危険率で有意の差がある。すなわち第14日には殺滅率は低下している。このような低下は，30°C, 4000倍浸漬第7日と第14日の間（その殺滅率は33.3％と20.6％であり，その差は2％以下の危険率で有意，$\chi^2=5.7496$），10°C, 2000倍浸漬第3日と第7日の間（その殺滅率は83.8％と22.7％で，その差は1％以下の危険率で有意，$\chi^2=969.266$）に見られる。最後に浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，全浸漬期間を通じて，各稀釈とも30°C 浸漬の方が殺滅率が高い。

ヅビニ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は30°C 浸漬では，浸漬期間を通じて2000倍，10°C浸漬では，浸漬期間を通じて1000倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，30°C, 4000倍浸漬第1日80.8％，第3日18.7％，第7日9.2％というふうに低下している。第14日は12.0％であるが，これと浸漬7日の殺滅率9.2％の間には有意差はない（$\chi^2=0.09345$）。一方，10°C, 2000倍浸漬第1日99.2％，第3日97.5％で，その差は有意義ではないが，第7日の殺滅率87.5％と第3日の殺滅率97.5％の間には5％以下の危険率で有意差がある（$\chi^2=7.6223$）。つまり殺滅率の低下がみられる。また10°C 浸漬4000倍では第1日64.3％，第3日7.0％と著明に低下している。次に浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，浸漬第14日では，4000倍においては差

第5表 BHC 乳剤の殺滅率（％）

		イヌ鉤虫仔虫				ヅビニ鉤虫仔虫				アメリカ鉤虫仔虫			
	倍率	1日	3	7	14	1日	3	7	14	1日	3	7	14
30度浸漬	1000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	4000	36.7	82.3	86.5	98.0	88.8	94.1	90.8	99.1	90.3	98.7	98.0	98.6
	8000	13.5	89.0	83.2	31.6	28.4	35.5	26.9	53.8	29.6	79.5	80.8	81.5
	対照	3.2	7.4	1.8	1.7	0	0	0	7.0	4.6	2.8	0	5.8
10度浸漬	1000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	100	100	100	100	100	100	100	100	99.4	97.8	98.5	100
	4000	10.8	15.7	9.0	19.6	30.5	47.8	50.0	95.5	78.7	92.1	96.9	99.3
	8000	5.6	6.0	15.9	11.8	6.4	13.1	25.3	64.0	28.0	62.7	89.0	97.5
	対照	7.3	1.4	2.9	2.6	5.8	0	9.3	11.7	1.0	23.8	96.8	69.0

第6表 DN 乳剤の殺滅率（％）

		イヌ鉤虫仔虫				ヅビニ鉤虫仔虫				アメリカ鉤虫仔虫			
	倍率	1日	3	7	14	1日	3	7	14	1日	3	7	14
30度浸漬	1000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	100	100	100	100	99.0	99.0	97.0	100	100	100	100	100
	4000	40.9	83.8	88.1	88.5	8.9	4.8	9.1	20.9	89.6	100	100	100
	8000	12.0	15.9	25.7	23.1	0	0	0.8	0	38.6	83.9	79.6	88.1
	対照	2.2	0	2.7	2.5	0	0	0	0.8	1.3	8.3	3.1	5.5
10度浸漬	1000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	90.3	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	4000	38.2	81.7	98.2	100	26.3	60.3	90.7	92.5	98.3	100	100	100
	8000	7.5	9.2	25.0	56.7	0	4.2	13.0	32.8	65.8	89.1	99.1	100
	対照	2.2	0	0	2.8	0	0	0	0.9	1.3	4.7	41.8	91.5

はないが(χ^2=2.4880)，8000倍においては低温浸漬の方が殺滅率が高い（両温度の殺滅率の差は1％以下の危険率で有意)。

アメリカ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C浸漬，10°C浸漬とも2000倍である。また浸漬第1日における，浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，2000倍，4000倍浸漬とも高温浸漬の方が殺滅率が高い。

5. BHC乳剤： 本薬剤も三種鉤虫仔虫に対し殺滅効果を示す(第5表)。

イヌ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，高温，低温浸漬とも2000倍である。また本薬剤においては，低温で浸漬した場合より高温で浸漬した方が殺滅率が高い。

ヅビニ鉤虫仔虫の場合も，有効限界限濃度は，両温度とも2000倍である。また本薬剤においては，8000倍浸漬第7日，および第14日を除いて，高温浸漬の方が低温浸漬より殺滅率が高い。

アメリカ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C浸漬では2000倍，10°C浸漬では1000倍である。

6. DN乳剤： 本薬剤も三種鉤虫仔虫に対して殺滅効果を示す(第6表)。

イヌ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C浸漬では，全浸漬期間を通じて2000倍，一方10°C浸漬では，浸漬第1日1000倍，第3日，および第7日2000倍，第14日4000倍と上昇している。次に浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，4000倍浸漬第1日，第3日，第7日は相違はないが，第14日では低温の方が殺滅率が高い(30°C浸漬と10°C浸漬の殺滅率の差は直接確率計算法で1％以下の危険率で有意)。また8000倍浸漬では，浸漬第1日，第3日，第7日とも有意差がないが(第1日，χ^2=1.2153，第3日，χ^2=3.1459，第7日，χ^2=0.0216)，第14日は10°C浸漬の方が殺滅率が高い(χ^2=34.2966で，1％以下の危険率で有意差がある)。ヅビニ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は30°C浸漬では，第1日，第3日，第7日1000倍，第14日2000倍である。一方10°C浸漬では，全浸漬期間を通じて2000倍である。次に浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，4000倍では全浸漬期間を通じて，また8000倍では第3日，第7日，第14日において，10°C浸漬の方が殺滅率が高い（両温度の殺滅率の差はいずれも1％以下の危険率で有意)。

アメリカ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C浸漬では，第1日2000倍，第3日，第7日，および第14日では，4000倍である。一方10°C浸漬では，第1日2000倍，第3日，および第7日4000倍である。第14日では8000倍で100％の殺滅率を示しているが，対照の死亡率は91.5％となつている。ところがこの差は直接確率計算法で1％以下の危険率で有意であるから，8000倍浸漬14日の殺滅率100％は寒冷のためだけで生じたと考えることはできない。次に浸漬第1日の殺滅率の，浸漬温度による相違をみると，4000倍，8000倍とも，低温浸漬の方が殺滅率が高い（両者とも，温度による殺滅率の差は1％以下の危険率で有意)。

7. オボトラン乳剤： 本薬剤稀釈液も三種鉤虫仔虫に対して殺滅効果を示す(第7表)。

イヌ鉤虫仔虫に対しては，有効限界濃度は30°C浸漬では第1日，第3日，第7日はともに2000倍，第14日は

第7表　オボトラン乳剤の殺滅率(％)

		イヌ鉤虫仔虫				ヅビニ鉤虫仔虫				アメリカ鉤虫仔虫			
	倍率	1日	3	7	14	1日	3	7	14	1日	3	7	14
30度浸漬	1000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	100	100	100	100	100	97.4	100	100	100	100	100	100
	4000	87.1	71.9	87.3	100	83.1	47.8	34.2	83.6	100	100	100	100
	8000	21.9	17.1	40.8	92.5	0	0	2.3	53.4	62.0	80.7	96.0	100
	対照	0.6	1.5	3.4	1.6	0	0	0	0	0	2.2	31.9	56.0
10度浸漬	1000	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	2000	97.4	99.2	98.0	100	100	99.0	96.8	100	100	100	100	100
	4000	95.2	98.4	96.7	95.9	53.3	13.3	11.6	56.8	100	100	100	100
	8000	4.1	0	6.8	0.9	1.3	0.8	6.9	1.5	97.0	91.8	96.9	100
	対照	0.9	0.7	0.8	0.8	0	0	0	1.5	0	1.2	10.6	34.9

4000倍である。一方10°C浸漬では，第1日，第3日，第7日1000倍，第14日2000倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，4000倍浸漬，第1日87.1％，第3日71.9％で，その差は1％以下の危険率で有意である。したがつて，浸漬第3日には殺滅率が低下したことになる。ところが第7日は87.3％と上昇している（第3日の殺滅率と第7日の殺滅率の間には1％以下の危険率で有意な差がある）。最後に浸漬温度の相違による殺滅率の差をみると，4000倍浸漬第1日には殺滅率の差はなく，第3日，および第7日には低温の方が殺滅率が高く（前者では1％以下の，後者では2％以下の危険率で有意の差がある），第14日には高温の方が殺滅率が高い（1％以下の危険率で有意の差がある）。ところが8000倍では，全浸漬期間を通じて，高温浸漬の方が殺滅率が高い。

ヅビニ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は30°Cでは第1日2000倍，第3日1000倍，第7日，第14日1000倍，10°Cでは，第1日2000倍，第3，第7日1000倍，第14日2000倍である。次に殺滅率の時間的推移をみると，30°C浸漬4000倍では，第1日83.1％，第3日47.8％と低下している。第7日の殺滅率は34.2％であるが，これと第3日の殺滅率の間には2％以下の危険率で有意差がある。つまり第7日には殺滅率は低下しているが，第14日は83.5％と上昇している。また10°C浸漬4000倍第1日53.3％，第3日13.3％と低下し，第7日は11.6％となつているが，これと第3日の殺滅率との間には有意差はみられない（$\chi^2=0.1610$）。ところが第14日は56.8％と上昇している。最後に浸漬温度の相違による殺滅率の差を第14日でみると，高温の方が殺滅率が高い。

アメリカ鉤虫仔虫の場合は，有効限界濃度は，30°C浸漬，10°C浸漬ともに，第1日，第3日，第7日4000倍である。第14日においては8000倍でも100％殺滅を示しているが，それ以上の稀釈度で実験を行つていないから，有効限界濃度について正確なことはわからない。

8. **パラシモール**：本薬剤は高濃度で長期間作用させないときは，三種鉤虫仔虫に対して殺滅効果を示さない（第8表）。

イヌ鉤虫仔虫の場合，500倍液で，30°Cで浸漬したとき，浸漬第1日の殺滅率は，12.9％，第3日99.2％，第7日97.4％，第14日99.1％というふうに100％殺滅しない。また10°Cで浸漬したときは，第1日2.7％，第3日12.2％，第7日100％となるが，第14日には95.5％となつている。これと第7日の殺滅率の間には1％以下の危険率で有意差があるから，第7日の100％の中には，仮死したものが含まれているか，あるいは第14日の殺滅率95.5％と100％の差4.5％は生き返つた仔虫と考えられる。

ヅビニ鉤虫仔虫の場合には，30°C浸漬，10°C浸漬とも，500倍でも第1日，第3日には100％殺滅を示さないが，第7日，および第14日では1000倍で100％殺滅を示す。一方10°C浸漬では第1日，第3日には，上と同じく500倍でも100％殺滅を示さないが，第7日では500倍で，第14日では1000倍で100％殺滅を示す。

アメリカ鉤虫仔虫の場合には，500倍浸漬でも30°C 10°Cとも，浸漬第1日，第3日には100％殺滅を示さ

第8表 パラシモールの殺滅率（％）

	倍率	イヌ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	ヅビニ鉤虫仔虫 1日	3	7	14	アメリカ鉤虫仔虫 1日	3	7	14
30度浸漬	500	12.9	99.2	97.4	99.1	32.8	97.5	100	100	90.4	99.1	100	98.4
	1000	8.3	99.0	99.0	99.1	42.4	98.5	100	100	90.9	96.0	94.7	96.5
	2000	5.9	99.1	82.3	90.9	24.8	97.6	100	99.1	83.8	97.6	95.3	97.5
	4000	2.2	57.2	57.9	88.1	8.4	33.3	81.7	90.9	65.5	98.5	85.7	76.8
	対照	2.2	0	2.7	2.5	0	0	0	0	1.3	8.3	3.1	5.5
10度浸漬	500	2.7	12.2	100	95.5	4.0	65.6	100	100	6.3	97.4	100	100
	1000	2.9	13.0	13.2	45.2	3.9	9.7	78.6	100	11.2	93.0	100	100
	2000	0.8	13.9	9.0	28.9	12.7	18.0	53.3	100	4.9	77.1	100	100
	4000	0	3.8	10.5	12.0	7.4	6.6	11.9	78.3	3.8	21.8	88.0	100
	対照	2.2	0	0	2.8	0	0	0	5.3	1.4	4.7	41.8	91.5

第9表 硼砂の殺滅率（%）

		イヌ鉤虫仔虫				ヅビニ鉤虫仔虫				アメリカ鉤虫仔虫			
	倍率	1日	3	7	14	1日	3	7	14	1日	3	7	14
30	100	1.7	1.4	0.8	93.4	2.1	5.9	3.0	42.9	30.6	25.0	95.4	98.0
度	200	4.5	0.7	0.9	42.3	0.6	1.5	2.2	9.4	29.7	13.3	97.6	87.2
浸	400	9.0	0	0.9	4.0	2.1	0.8	1.0	6.2	1.5	8.4	72.7	45.3
漬	対照	1.2	0	0	0.8	1.8	0.7	1.5	5.4	4.7	9.6	22.7	60.1
10	100	0	0	0	5.6	1.5	1.3	2.6	0.8	13.0	56.9	27.9	100
度	200	0	0	0.7	2.3	4.0	2.6	5.7	2.6	10.0	32.7	11.6	99.1
浸	400	0	0	2.7	0	1.6	2.8	2.5	2.6	6.8	16.2	10.5	98.1
漬	対照	0	0	0	0	0	4.0	1.7	2.9	0	13.2	5.7	97.6

ないが，浸漬第7日には，30°C 浸漬では500倍，10°C浸漬では2000倍で100%殺滅を示す。なお30°C 500倍浸漬第14日には98.4%の殺滅率を示しているが，これと上述の第7日の殺滅率100%との間には有意差はない。また10°C浸漬では，4000倍でも100%殺滅を示しているが，対照の死亡率は91.5%となつている。

なお，パラシモールは，さきに述べたように，乳化剤エマルゲンで乳化したのち稀釈したが，パラシモール500倍稀釈以下では，エマルゲンの白濁度がはげしいため，鏡見が不能であつた。それゆえ500倍以下では実験してない。

9. **硼砂**：本薬剤は第9表に示すように，100倍では，イヌ，およびヅビニ鉤虫仔虫に対してまつたく殺滅効果を示さない。しかしアメリカ鉤虫仔虫に対しては，100倍，10°C 浸漬第14日において100%殺滅を示した。

考察と小括

1. 本実験の結果によると，供試九薬剤中，いちばん有効なものは，ヘキシールレゾルシンで，その有効限界濃度は第10表に示すように，30°C 浸漬1日では，イヌ，およびアメリカ鉤虫仔虫8000倍，ヅビニ鉤虫仔虫4000倍である。けれどもそれは，前報で述べた芥子油の薬効より劣つている。芥子油30°C浸漬1日では，有効限界濃度は，イヌ，およびヅビニ鉤虫仔虫64000倍，アメリカ鉤虫仔虫32000倍であつた。

本実験の結果では，硼砂は有効でなかつた。硼砂は，さきに述べたように，Hoerlein (1950, 1951) が，土壌中のイヌ鉤虫仔虫を殺滅する薬剤として推賞しているものである。Hoerlein の結果と本実験の結果が，このように異なつているのは，前者が土壌実験であり，後者が試験管内の実験であるためと，一応考えられる。これについては第3報で述べる。

パラシモールは，高濃度の液を高温で，3日，あるいは7日以上浸漬しないかぎりは，殺滅効果を発揮しない。なお山下によると，本薬剤は，蛔虫駆虫作用がなく，蛔虫の産卵機能を抑制するのみだという。他の薬剤は，アスカロンT乳剤を除いて，効果はほぼ伯仲している（第10表）。佐野（1952）は，BHC 水和剤（ガンマー体5%含有）1%では，供試ヅビニ鉤虫仔虫の大部が死ぬのは11〜12時間，全部が死ぬのは18〜19時間，また0.2%液ではなんら殺仔虫作用がないといつている。さてガンマー体を基準にして計算すると，0.2%は本実験の1000倍液にあたる。ところで本実験では，浸漬してから24時間目に鏡見したところ，供試ヅビニ鉤虫仔虫の全部が死んでいた。また佐野は，DDT 水和剤（20%）0.5%液では，殺仔虫作用はないとしている。ところでDDT 含有量を基準にして計算すると，0.5%液は，本実験の1000倍液よりも DDT 含有量が多い。ところが本実験ではヅビニ鉤虫仔虫を24時間以内に100%殺滅している。この相違は，乳剤と水和剤の相違によるところが多いと考えられる。ところで BHC や DDT を用いて農業昆虫を殺滅する場合，乳剤と水和剤を同一濃度で撒布しても，乳剤の方が殺虫力が強いといわれている。そして，それは乳剤の方が昆虫体への附着や浸透が，水和剤より高いためであるとされている。

2. 私はさきに（安田，1957），二硫化炭素にイヌおよびヅビニ鉤虫仔虫を浸漬した場合，芥子油にイヌおよびヅビニ鉤虫仔虫を浸漬した場合，ネオジクロンにアメリカ鉤虫を浸漬した場合，二臭化エチレンにイヌ，ヅビニ

およびアメリカ鈎虫仔虫を浸漬した場合，浸漬第1日の有効限界濃度の1，あるいは2段上の稀釈において，浸漬第1日，あるいは第3日には，高温浸漬の方が殺滅率が高いが，それ以後になると低温浸漬の方が殺滅率が高くなるか，殺滅率の差がなくなることをみ，このような現象は，これら薬剤を蛔，鈎虫卵に作用させたとき見られないことを強調した。ところが本実験においても，アスカロンT乳剤にヅビニ鈎虫仔虫を浸漬した場合，デリス乳剤にヅビニ鈎虫仔虫を浸漬した場合，DDT 乳剤にヅビニ鈎虫仔虫を浸漬した場合，DN 乳剤にイヌおよびヅビニ鈎虫仔虫を浸漬した場合には，浸漬後期には低温浸漬の方が殺滅率が高くなつている（ただし本実験の場合には，浸漬第1日には殺滅率の差のないことが多い)。しかも 8000 倍のような高稀釈液に浸漬したとき，このような現象がみられることは，大いに注目すべき点である。ところで，昆虫に薬剤を作用させて殺滅する場合には，殺虫は，1. 毒物が昆虫に摂取，吸収，および吸入されて，その組織に作用する速度と度合，2. 毒物が排泄，分解，および解毒される速度と度合，という二つの因子によつて規定されるといわれる (Brown 1951)。それゆえ，1. 温度が高いと代謝がさかんに行われるから，摂取される毒物の量も多く，その作用も急速に現われる。したがつて，例外はあるが，作用温度が高いときには，殺虫率が大きい。たとえば，*Eutettix tenellus* (ヨコバエの一種)にピレトリン(除虫菊)を作用させたとき，60°F (16°C) では殺虫率 53 %，一方 100°F (38°C) では 73 % である (Harries *et al.*, 1954)。また *Ahasverus advena* をデリスに浸漬したとき，25°C では 10°C の5倍の殺虫率がある (Craufurd-Benson, 1938)。2. 薬剤の処置後は，低温の方が殺滅率が高い。これは，高温の場合の方が低温の場合(ただし昆虫の適温範囲内で)よりも，体内に摂取された毒物が，昆虫体内の酵素によつてより多く分解，解毒されるためであるとされている。たとえば，*Eutettix tenellus* に同一の作用温度でピレトリンを撒布したとき処置後の温度が 90°F (32°C) のときは殺虫率は 81～88 %，一方 100°F (38°C) では 29～33 % である (Harries *et al.*, 1945)。また *Plutella maculipennis* (コナガ) の幼虫に 0.0125 % の DDT 液を撒布したとき，処置後の温度が 90°F (32°C) のときは殺虫率 9 %，一方 70°F (21°C) のときは 78 % である (Dustan, 1947)。以上のことから，「薬剤の適用は暖い温度でなされ，それに低い温度の期間が続いたときに，昆虫殺滅は最良の結果がえられる。もし適用，および処置後の温度に単一の温度水準しか用いられないときは，処置後の条件がもつと決定的だから，低温の方が好ましい」という原則がたてられた (Harries *et al.*, 1945, Brown, 1951)。

もしわれわれが事象を現象的にみるならば，鈎虫仔虫の，二硫化炭素，芥子油，ネオジクロン，二臭化エチレンおよび DN に対する態度は，上述の，ある種の薬剤に対するある種の昆虫の態度に合致している。また DDT は，ある種の昆虫に対して，低温時は高温時よりも殺虫率が高い，とされているが (Vinson, Kearns, 1952, 山崎および石井, 1954)，このような現象はヅビニ鈎虫仔虫を DDT に浸漬したさいにも見られる。また本実験において，二硫化炭素，および DDT において殺滅率の低下，すなわち仮死状態よりの蘇生がみられたが，これは二硫化炭素，およびピレトリンを昆虫に作用させた場合みられる蘇生に似ている。

けれども，鈎虫仔虫は昆虫とは分類学上の位置も，形態学的にも，異なつている。*Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp* および *Nippostrongylus muris* の感染仔虫の被鞘の化学成分についての Bird および Rogers (1956) の研究によると，脂質の存在は疑わしく，プロリン，水酸化プロリン，アスパルギン酸，チステイン酸，グルタミン酸，アラニン，ロイシン，グリシン，ヴアリンのようなアミノ酸からなる。また *Ascaris lumbricodies*, *Toxocara mystax*, *Strongylus equinus* のクチクラの化学成分についての，Bird (1956) の研究によると，含水炭素および脂肪はごく少量しかなく，キチン質は欠けており，グリシン，アラニン，ヴアリン，ロイチン，トレオニン，チステイン，チステイン酸，アスパルギン酸，グルタミン酸，リジン，アルギニン，ヒスチイジン，チロジン，トリプトフアン，プロリン，水酸化プロリンからなる。感染仔虫のクチクラについては明らかでないし，また彼らの行つたものは鈎虫仔虫ではないが，この研究から類推すると，鈎虫の感染仔虫のクチクラにキチン質や脂肪の存在する可能性は少い。一方昆虫のクチクラではこれらが重要な役割を演じている。またある種の昆虫においては，たとえば DDT を無毒の DDE に脱塩酸する酵素が確認されているが (Vinson & Kearns, 1952)，われわれは，鈎虫仔虫体に存在している解毒酵素についてなんら知つていない (重浦, 1939, 武田, 1956)。したがつてわれわれは，ある種の薬剤による鈎虫仔虫殺滅と温度との関係は，ある種の薬剤によるある種の昆虫の殺虫力と温度との関係に似ているといえるだけで，それ以上のことはいうことはできない。けれども，この一致は

第10表　各薬剤の有効限界濃度

			ヘキシールレゾルシン	アスカロンT	デリス	DDT	BHC	DN	オボトラン
1日	30度	イヌ	8000倍	500	1000以下	1000	2000	2000	2000
		ヅビニ	4000	1000	500	2000	2000	1000	2000
		アメリカ	8000	2000	2000	2000	2000	2000	4000
	10度	イヌ	8000	250以下	1000以下	1000以下	2000	1000	1000
		ヅビニ	4000	500	1000	1000	2000	2000	2000
		アメリカ	4000	500	4000	2000	1000	2000	4000
7日	30度	イヌ	16000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
		ヅビニ	8000	1000	1000	2000	2000	1000	2000
		アメリカ	16000	4000	4000	2000	2000	4000	4000
	10度	イヌ	8000	1000	1000	1000	2000	2000	1000
		ヅビニ	8000	2000	1000	1000	2000	2000	1000
		アメリカ	16000	4000	4000	2000	1000	4000	4000

殺仔虫のメカニズムにも研究の手がのびねばならないことを示唆している。

なお，鉤虫仔虫のクチクラがアミノ酸からなつているらしいという上述の類推は，これまでに提唱された殺仔虫剤たる，石炭酸，エチルアルコール，塩酸，ヨードチンキ等が，蛋白凝固作用をもつていることを思い合すとき，興味あるものがある。しかし本実験に用いられた薬剤がなぜ殺仔虫作用をもつているかについては，この説だけで説明することはできない。

3．次に三種鉤虫仔虫の供試薬剤に対する抵抗性を比較してみよう。まず，30°C 浸漬第1日の場合は，ヘキシールレゾルシン，アスカロンT乳剤，DN 乳剤，オボトラン乳剤に対しては，有効限界濃度は，ヅビニ鉤虫仔虫はアメリカ鉤虫仔虫の $^1/_2$ あるいは $^1/_4$ であり 10°C 浸漬第1日には，デリス乳剤，DDT 乳剤，オボトラン乳剤に対しては，有効限界濃度は，ヅビニ鉤虫仔虫はアメリカ鉤虫仔虫の $^1/_2$ あるいは $^1/_4$ である(第10表)。また殺滅率からみても，ヘキシールレゾルシン16000倍に対し，30°C 浸漬第1日では，ヅビニ鉤虫仔虫 0.8％，アメリカ鉤虫仔虫 82.3％，アスカロンT乳剤 4000倍に対し，ヅビニ鉤虫仔虫 0.8％，アメリカ鉤虫仔虫 96.3％，デリス乳剤 8000倍に対し，ヅビニ鉤虫仔虫 0.9％，アメリカ鉤虫仔虫 62.9％，DDT 乳剤 8000倍に対し，ヅビニ鉤虫仔虫 0.5％，アメリカ鉤虫仔虫 33.1％，DN 乳剤 8000倍に対し，ヅビニ鉤虫仔虫 0％，アメリカ鉤虫仔虫 38.6％，オボトラン乳剤 8000倍に対し，ヅビニ鉤虫仔虫 0％，アメリカ鉤虫仔虫 62.0％，というふうに，アメリカ鉤虫仔虫はヅビニ鉤虫仔虫より，上記薬剤に対し，抵抗性が弱い。これは二硫化炭素乳剤，ネオジクロン，二臭化エチレン，亜硝酸ソーダに対して，アメリカ鉤虫仔虫はヅビニ鉤虫仔虫より抵抗性が弱いという前報の結果に合致している。しかし BHC 乳剤に対しては，有効限界濃度からみても，殺滅率からみても，アメリカ鉤虫仔虫はヅビニ鉤虫仔虫と同等の抵抗性をもつ。

次にヅビニ鉤虫仔虫とイヌ鉤虫仔虫の供試薬剤に対する抵抗性をみてみよう。有効限界濃度からみると，30°C 浸漬第1日では，ヘキシールレゾルシンに対しては，ヅビニ鉤虫仔虫はイヌ鉤虫仔虫の $^1/_2$ アスカロンT乳剤に対しては，ヅビニ鉤虫仔虫はイヌ鉤虫仔虫の2倍，DDT 乳剤に対しては，ヅビニ鉤虫仔虫はイヌ鉤虫仔虫の2倍，DN 乳剤に対しては，ヅビニ鉤虫仔虫はイヌ鉤虫仔虫の $^1/_2$ である(第10表)。また殺滅率からみると，ヘキシールレゾルシン16000倍 30°C 浸漬第1日では，ヅビニ鉤虫仔虫 0.8％，イヌ鉤虫仔虫 13.8％で前者が強く，アスカロンT乳剤 2000倍浸漬では，ヅビニ鉤虫仔虫 73.1％，イヌ鉤虫仔虫 15.3％で前者が弱く，デリス乳剤 2000倍に対しては，ヅビニ鉤虫仔虫 82.6％，イヌ鉤虫仔虫 59.6％で，前者の方が弱いが(1％以下の危険率で有意差がある，$\chi^2=15.902$)，4000倍では前者 22.0％に対し，後者 30.8％で，有意差がない($\chi^2=1.3518$)。また DDT 4000倍に対しては，ヅビニ鉤虫仔虫 80.8％に対し，イヌ鉤虫仔虫 2.3％で，ヅビニ鉤虫仔虫の方が弱く，BHC 乳剤 4000倍に対しては，

ヅビニ鉤虫仔虫88.8%に対し，イヌ鉤虫仔虫36.7%で，ヅビニ鉤虫仔虫の方が弱く，DN 乳剤4000倍に対しては，ヅビニ鉤虫仔虫8.9%に対し，イヌ鉤虫仔虫40.9%で，ヅビニ鉤虫仔虫の方が強い。またオボトラン乳剤に対しては，4000倍浸漬では両者に相違がみられないが，8000倍浸漬では，ヅビニ鉤虫仔虫の方が強い。このように，ヅビニ鉤虫仔虫は，ある薬剤に対しては，イヌ鉤虫仔虫より抵抗性が強く，またある薬剤に対しては，弱いか，同等であるが，これは前報に述べたのと合致している。

ところで，イヌ鉤虫仔虫およびヅビニ鉤虫仔虫を水道水に入れた場合(対照群)には，10°C で浸漬したときでも，浸漬第14日の死亡率は5%内外で，30°C で浸漬したときの死亡率と大差がなかつた。ところが，アメリカ鉤虫仔虫の場合は，10°C で浸漬したときは，浸漬第7日は50%内外，浸漬第14日には90%内外の死亡率を示し，30°C で浸漬したときの，それぞれに対応する死亡率との間に有意差があつた。このことは，アメリカ鉤虫仔虫は，薬剤に対してばかりでなく，寒冷に達してもヅビニ鉤虫仔虫より抵抗性が弱いことを物語つている。

要　約

ヘキシールレゾルシン，アスカロンT乳剤，デリス乳剤，DDT 乳剤，BHC 乳剤，DN 乳剤，オボトラン乳剤，パラシモール，硼砂のイヌ，ヅビニ，アメリカ鉤虫仔虫に対するスクリーニングテストを試験管内で実施し，次の結果をえた。

1. 九種薬剤中，硼砂は殺仔虫作用がまつたくなく，パラシモールは，高濃度で，長期浸漬しないかぎりは殺仔虫作用を示さなかつた。それ以外の薬剤は殺仔虫作用を浸漬第1日に早くも示したが，その中でもヘキシールレゾルシンの薬効がもつとも強く，8000倍で100%殺滅を示した。

2. 九種薬剤中，アスカロンT乳剤，デリス乳剤，DDT 乳剤，DN 乳剤は，低温浸漬の方が高温浸漬より殺滅率が高かつたが，他の薬剤では，高温浸漬の方が殺滅率が高かつた。

3. 一般にいつて，ヅビニ鉤虫仔虫はアメリカ鉤虫仔虫より薬剤，および寒冷に対する抵抗性が強かつた。またイヌ鉤虫仔虫は，ヅビニ鉤虫仔虫より，ある薬剤に対しては，抵抗性が強く，ある薬剤に対しては弱く，ある薬剤に対しては差がなかつた。

稿を終るにあたり，ご指導およびご校閲を賜わつた部長小宮義孝博士，当地では入手がきわめて困難であつた実験材料入手に種々のご便宜をはかられた，小宮義孝博士，石崎達博士，山梨医学研究所の杉浦三郎博士，横浜医科大学の永井隆吉博士，千葉大学公衆衛生学教室の片波見重兵衛氏，薬剤を提供された長尾研究所の山下徳蔵博士，および三共製薬農薬部に厚く感謝の意を捧げます。

文　献

1) Bird, A. F. and Rogers, W. P. (1956) : Chemical composition of the cuticle of third stage nematode larvae. Exptl, parasitol., 5, 449-457. —2) Bird, A. F. (1956) : Chemical composition of the nematode cuticule, Observations of the whole cuticle. Exptl. Parasitol., 5, 350-358. —3) Brown, A. W. A. (1951) : Insect control by chemicals, New York. Wiley. —4) Cameron, T. W. M. and Parnell, I. W. (1939) : Observations on the control of bursate nematodes by the chemical treatment of manure. Vollumen Jubilare Pro Professor Sadao Yoshida. Vol, 2, Osaka. —5) Crausfurd-Benson, H. J. (1938) : Temperature and toxicity of derris, *Ahasverus*. Bull. Ent. Res., 26, 41-56. —6) Dustan, C. G. (1947) : Effect of temperature on lethality of DDT, *Plutella*. Can. Ent. 79, 1-4. —7) Harries, *et al.* (1954) : Temperature and toxicity, *Eutettix*. J. Ag. Res., 71, 553-565. —8) Hoerlein, B. F. (1950) : The evaluation of various chemical agents in the treatment of soil infected with larvae of dog hookworm (*Ancylostoma caninum.*). North. Am. Vet., 31, 253-262. —9) Hoerlein (1951) : Further studies on the chmical treatment of soil infected with larvae on the dog hookworm(*Ancylostoma caninum*). Vet. Med., 46, 350-353. —10) 佐野敏朗(1952) : 寄生虫卵及び仔虫に対する数種農薬の殺滅的効果，第1報，人鉤虫成熟仔虫の数種農薬に対する抵抗力試験，岡山医学誌，64, 1135-1136. —11) 重浦靖治(1939) : 二三線虫類の酵素の研究，慶応医学，19, 1057-1062. —12) Sternburg, J. and Kearns, C. W. (1952) : Metabolic fate of DDT when applied to certain naturally tolerant insect. J. Econom. Ent., 497-505. —13) 田中彰一(1956) : 農薬精義，東京，養賢堂. —14) 武田勝美(1956) : 有機燐農薬に対する鉤仔虫の抵抗性に就て，寄生虫誌，5, 88-89. —15) 山崎輝男・石井敏夫(1954) : 殺虫剤の作用機構に関する研究(第8報)，ゴキブリ神経のDDT感受性に及ぼす温度の影響，防虫科学，19, 39-46. —16) 山下徳蔵(1957) : 私信による. —17) 安田一

郎(1957)：各種化学薬品の鉤虫仔虫に対する殺滅試験，(1) 殺卵剤による in vitro 試験，寄生虫誌，6, 75-86. —18) Vinson, E. B. and Kearns, C. W. (1952): Temperature and action of DDT on the american roach. J. Econom. Ent., 45, 484-496.

Summary

The larvacidal effect of 2 anthelmintics (Hexylresorcinol and "Ascaron-T", the latter contains 90 % p-Cymol and 10 % Ascaridol), 5 incecticides (Derris, DDT, BHC, DN and K6451) and 2 other chemicals (Borax and p-Cymol) against the larvae of hookworm was *in vitro* tested and the results were summarized as follows;

1) Among 9 chemicals tested, Hexylresorcinol was found to be the most effective. It killed all the larvae in a concentrration of 1:8000 at 24 hours after the immersion. Whereas p-Cymol and Borax were ineffctive. Other chmicals killed all the larvae in a concentration of 1:1000 or 1:2000 at 24 hours after the immersion.

2) When the larvae were immersed in the weak solution of "Ascaron-T", Derris, DDT, or DN, the lethality of larvae was higher at 10°C than at 30°C on the 14th day after the immerson. These phenomena were seemed to resemble the behavior of the incect against certain insecticides.

3) Generally speaking, the resistance of *Ancylostoma duodenale* against the chemicals was stronger than that of *Necator americanus*, but was as same as that of *Ancylostoma caninum*.

寄贈文献目録（9）つづき

394. 岡村一郎，丸田繁(1955)：我々の見た顎口虫症の臨床所見，熊本医学会雑誌，29(補冊1)，81〜84.

395. 岡村一郎，丸田繁，村上和充，赤星澄夫(1955)：人体肺臓より喀出された有棘顎口虫成虫，東京医事新誌，7(5)，247〜248.

396. 萩原武雄，楠元忠雄，村上和充，松下文雄，内田健一(1957)：人結膜より摘出した線虫の二例，熊本医学会雑誌，31(2)，179〜183.

397. 松下文雄，寺本昭三，内田早苗，谷田末高(1956)：条虫類に於ける Phosphatase の組織化学的研究，熊本医学会雑誌 31(4)，367〜369.

398. 岡村一郎，丸田繁，(1950)：皮膚顎口虫症の組織学的検索，日病会誌，39，1〜2，

399. 岡村一郎，梅本元彦(1953)：Filaria 性陰嚢水腫の病理組織学的研究，日病会誌，42(地方会号)，1〜2.

400. 岡村一郎，楢原英明(1949)：黒色表皮腫の一剖検例，日病会誌，38(地方会号)，1〜2.

401. 岡村一郎，岡山雌一郎，荒木外也，橋本典秋，三浦守(1950)：蛔虫症に関する研究，第1報，日病会誌，39(地方会号)，232〜233.

402. 岡村一郎，藤崎藤彦，梅本元彦(1951)：熊本県下に於ける死因の地理病理学的検討（第1報)，日病会誌，40，1，

403. 橋本典秋，岡村一郎，赤星澄夫，市村平，(1950)：鉤虫症の実験的研究(其の1)，日病会誌，39(地方会号)，1〜3.

404. 三浦守，荒木外也，梶原誠一，岡山雌一郎，赤星澄夫，橋本典秋(1951)：蛔虫症に関する研究（第III報）蛔虫々体液の影響に関する病理学的研究，日病会誌，40，1〜2.

405. 赤星澄夫，橋本典秋，梅本元彦(1952)：十二指腸虫症に関する研究（第1報)，日病会誌，39(地方会号)，234〜235.

406. 三浦守，岡村一郎，村上和充(1951)：吸虫セルカリア毒腺に関する研究，日病会誌，40(地方会号)，1〜2.

407. 小机弘之，鈴木禾甫，(1957)：Acridinorange 螢光法によるアメーバ症治療薬の試験管内効果判定のこゝろみ，医学と生学物，43(4)，134〜140.

408. 片淵秀雄(1955)：佐賀県の日本住血吸虫病研究史，86 頁，自家出版　非売品

数種市販合成洗剤による蔬菜附着蛔虫卵の洗滌除去効果

小 林 昭 夫　熊 田 三 由
国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和32年3月7日受領)

普通市場に出廻つている蔬菜のうち，日常われわれが生食している品種は意外に多く，小宮ら (1954) の調査成績をみるに，調査蔬菜総数の半数以上が生食に供せられており，かつ頻繁に生食する蔬菜 (例　キャベツ，白菜，大根等) ほどその調理法も多い。

またこれらの蔬菜については，蛔虫仔虫期卵が比較的高率に附着していることが証明されている (笛木, 1952) 以上，如上各種蔬菜の生食が蛔虫感染の重要なルートたりうることは明らかである。したがつて蔬菜附着卵の殺滅乃至除去は，蛔虫感染予防の重要課題である。が，そのうち化学薬剤または熱による附着虫卵の殺滅は，未だ実施困難なる実状を考慮するときは，洗滌による虫卵の有効なる除去方法を考案することは甚だ重要なる意義をもつ。

洗滌による蔬菜附着卵の水中での除去試験については，小田 (1927)，千葉 (1928)，斎藤ら (1950)，小宮ら (1954) 等の報告がある。小宮らは実験的に白菜に蛔虫卵 (2％フォルマリン水浸漬豚蛔虫子宮内卵) を附着させ，各種洗滌法によるその除去状況を検し，歯ブラシ法が除去率最も高く，1回の洗滌で92～96％を除去するのに対して，普通行われている「ふり洗い法」は最も効果劣り，これを2回反復洗滌しても，平均約半数の虫卵が除去されるに過ぎないと述べている。

また化学薬剤を用いての除卵試験については清水 (1955) の報告がある。氏によれば，チョロックス (次亜塩素酸ソーダ) の2％水溶液中に野菜を20分間浸漬しおくときは，これに附着する虫卵は蛋白膜の剝離によつて完全に葉面から除去されるという。

AKIO KOBAYASHI & MITSUYOSHI KUMADA: The effect of several syndets on the elimination of ascaris ova attached to vegetables. (Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

私たちは最近頓にその需要を増しつゝある合成洗剤 (Synthetic detergent, Syndet, Soapless soap) の界面活性作用に着目し，もし同洗剤液中にて蔬菜を洗滌することによつて除卵効果が増大されうるならば，これの使用は塵埃，農薬等の除去と相俟つて公衆衛生的意義は大きいとの考えのもとに，市販数種洗剤を用いて，その除卵効果を試験した。

試験材料

1.　虫卵材料：豚蛔虫子宮末端部内卵の2％フォルマリン水中，5°C，1週間浸漬のもの。

2.　虫卵汚染野菜の作製：予め歯ブラシで一通り洗つた8 cm 平方大に切りとれる新鮮なキャベツの葉を上記虫卵の常水浮游液 (混合比，豚蛔虫1匹分の子宮下部内卵：水道水 100 cc または 400 cc) 中に浸漬し，充分に攪拌して虫卵を附着させ，これを風乾，保存 (5°C) し，葉の凋萎せざる間に随時使用した。

3.　洗剤品種ならびに試験洗剤液の作製：使用洗剤は下記の6種である。

a) 石油系洗剤

ライポンF (ライオン油脂製品，以下Lと略記する)

ニッサンセブン (日本油脂製品，N_7 と略記)

ニッサンニューレックスパウダーW (日本油脂製品，N_w と略記)

アデカクリーン (旭電化製品，Aと略記)

b) アルコール系洗剤

ワンダフル (花王石鹼製品，Wと略記)

ミヨシ (ミヨシ油脂製品，Mと略記)

洗剤の試験濃度は水道水にて0.5％～0.2％となし (L, A, W, M は0.5％，N_7 は0.2％，N_w は0.3％)，これの1 l を大型シリンダー (深さ 22 cm，直径 15 cm) 中に入れ，50回攪拌し充分に発泡させて試験に供する。

第1表 各洗剤の性状 (25°C)

種別	原形	水溶液						備考
		色調	臭い	味	pH 0.2%液	pH 0.5%液	比重	
ワンダフル	白色粉末	乳白色	なし	なし	9.35	9.55	1.005	アルコール系
ミヨシ	白色粉末	乳白色	なし	なし	7.15	7.17	1.004	アルコール系
ライポンF	白色粉末	無色透明	なし	なし	7.10	7.10	1.005	石油系
ニッサンセブン	黄色透明液状	無色透明	なし	なし	7.10	7.35	1.002	石油系
ニッサンニューレックスパウダーW	白色粉末	無色透明	なし	なし	7.10	7.20	1.003	石油系
アデカクリーン	白色粉末	無色透明	なし	なし	7.20	7.30	1.006	石油系
水道水					7.10		1.000	

色調，臭い，味，比重の検査は洗剤の各試験実施濃度にて行つた。pH の測定は Beckman pH meter (Model G) により行つた。

第2表 附着全虫卵数とふり洗いによる除卵率との相関々係

種別	相関係数	F 値
ライポンF	$r=-0.136$	$F_s=0.057$
ワンダフル	$r=0.656$	$F_s=2.275$
ミヨシ	$r=0.138$	$F_s=0.058$
ニッサンセブン	$r=0.292$	$F_s=0.281$
ニッサンニューレックスパウダーW	$r=0.686$	$F_s=2.676$
アデカクリーン	$r=0.166$	$F_s=0.086$
対照（水道水）	$r=0.136$	$F_s=0.056$
〃	$r=0.425$	$F_s=0.663$
〃	$r=0.255$	$F_s=0.208$
〃	$r=-0.822$	$F_s=6.250$

$n_1=1$, $n_2=3$, F_3^1 (0.05) =10.128

試験方法

各洗剤使用事例，対照事例（水道水）とも，夫々5枚宛の被検葉を用い，両事例とも同時に試験操作を行つた。まず被検葉1枚を洗剤液中に挿入（対照事例では水道水中）し，そのまゝ，10分間放置したのち，葉の一部をつまんで左右につよく20回ふる（第1回ふり洗い）。しかる後，葉は夫々別に用意せる1*l* の水道水をいれたシリンダー中に移し，同様の要領で再びふり洗いを施行する（第2回ふり洗い）。以上の操作を終了した葉は，附着残余虫卵を全て洗い落す目的により，さらに300 cc の水道水をもつた腰高シャーレ中に移し，除卵率の最も高いといわれる歯ブラシ法により水中洗滌をひきつゞき2回以上にわたつて虫卵が検出されなくなるに至るまで，各2分間宛反復8回施行した。洗滌後，各洗滌液はそのまゝ室温に30分以上放置し*（洗剤液のみは消泡するに至るまで1昼夜放置），虫卵の沈澱するをまち，上澄液をサイフォンを利用して静かに吸引除去し，その残液約15 cc にアンチフォルミン原液数滴を滴下，振盪し，約2時間放置して虫卵蛋白膜を剝離し，しかる後該液を遠心管にあけ，少量の水道水を加えて遠心し，上澄をしづかにピペットで吸つて除去，沈澱部全部をとつて鏡検し，虫卵数を算定した。但し第1回ふり洗い時のものに限り，虫卵数甚だ多数であるため，虫卵数の算出は，その一定水稀釈液内の単位容量中の3回平均卵数より概算し求めた。

試験成績

1. 被検洗剤の性状検査

はじめに各洗剤水溶液について，その物理化学的諸性状について検査した（第1表）。

各洗剤水溶液とも，試験濃度（0.2〜0.5%）では無味，無臭，比重は水より僅かに大（1.006〜1.002）で，W，M

* 蛔虫卵の水中沈降速度は意外に速いもので，中山（1956）によれば，10 cm 沈降所要時間は最大182秒である。本試験に用いた容器では，水深最大6 cm であるから，30分放置により虫卵の沈降は完全であると考えられる。また使用洗剤液の比重は1.006以下で絶対粘度も水のそれにほゞ等しいので，1昼夜放置により充分沈降するものと思われる。

第3表 ライポン F, ワンダフルによる洗滌除卵効果

種別	検葉 No.	除去虫卵数													
		方法	卵数	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計
ライポンF 0.5 %水溶液使用群	1	A1	2295 (90.9)	B1	34	2329 (92.3)	C1	172	2501 (99.1)	C2	10	2511	C8	0	2524 (100.0)
	2	A1	4407 (82.7)	B1	128	4535 (85.1)	C1	757	5292 (99.3)	C2	27	5319	C8	0	5330 (100.0)
	3	A1	5628 (91.2)	B1	89	5717 (92.6)	C1	407	6124 (99.2)	C2	22	6146	C8	0	6173 (100.0)
	4	A1	3572 (95.6)	B1	19	3591 (96.1)	C1	132	3723 (99.6)	C2	8	3731	C8	0	3738 (100.0)
	5	A1	5372 (96.3)	B1	45	5417 (97.1)	C1	153	5570 (99.8)	C2	5	5575	C8	0	5579 (100.0)
	計	A1	21274 (91.1)	B1	315	21589 (92.5)	C1	1621	23210 (99.4)	C2	72	23282	C8	0	23344 (100.0)
ワンダフル 0.5 %水溶液使用群	6	A′1	1364 (90.8)	B1	14	1378 (91.7)	C1	98	1476 (98.2)	C2	13	1489	C8	0	1503 (100.0)
	7	A′1	2232 (94.4)	B1	16	2248 (95.1)	C1	91	2339 (98.9)	C2	4	2343	C8	0	2364 (100.0)
	8	A′1	4320 (93.6)	B1	151	4471 (96.8)	C1	115	4586 (99.3)	C2	27	4613	C8	0	4617 (100.0)
	9	A′1	5048 (97.4)	B1	14	5062 (97.7)	C1	97	5159 (99.6)	C2	12	5171	C8	0	5182 (100.0)
	10	A′1	2613 (95.9)	B1	18	2631 (96.6)	C1	58	2689 (98.7)	C2	31	2720	C8	0	2725 (100.0)
	計	A′1	15577 (95.0)	B1	213	15790 (96.3)	C1	459	16249 (99.1)	C2	87	16336	C8	0	16391 (100.0)
対照群	11	B1	6890 (75.0)	B2	553	7443 (81.1)	C1	1658	9101 (99.1)	C2	70	9171	C8	0	9182 (100.0)
	12	B1	3060 (68.5)	B2	490	3550 (79.4)	C1	864	4414 (98.8)	C2	29	4443	C8	0	4469 (100.0)
	13	B1	1800 (67.6)	B2	255	2055 (77.2)	C1	541	2596 (97.6)	C2	53	2649	C8	0	2661 (100.0)
	14	B1	2359 (60.8)	B2	458	2817 (72.6)	C1	1014	3831 (98.7)	C2	33	3864	C8	0	3880 (100.0)
	15	B1	1365 (78.3)	B2	74	1439 (82.5)	C1	261	1700 (97.5)	C2	28	1728	C8	0	1744 (100.0)
	計	B1	15474 (70.5)	B2	1830	17304 (78.9)	C1	4338	21642 (98.7)	C2	213	21855	C8	0	21936 (100.0)

表中 A, A′ は各洗剤液中ふり洗い，Bは水道水中ふり洗い，Cは水道水中歯ブラシ法による洗滌をしめし，方法各記号に附した数字はその施行回数を意味する。各法（　）内の数値は除卵累計百分比%をしめす。C3〜C7 は表略。

が乳白色を呈する他は無色透明である。また pH はWのみが，かなり強いアルカリ性 (0.5 %液 : pH 9.55) を示した以外は大略中性であつた。

2. 各洗剤液使用による洗滌除卵効果

a) 野菜附着虫卵数の多寡と除卵率との関係

野菜えの附着虫卵密度は，同一条件でこれを人工的に附着せしめてもかなり著しい開き (5〜6倍) がみられることが少くない。洗滌による除卵率を比較する場合，予め附着虫卵密度の大小自体にもとづく除卵効果上の攪乱がみられないという保証が確保されておらねばならない。

第4表 ミヨシによる洗滌除卵効果

種別	検葉No.	除去虫卵数 方法	卵数	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計
ミヨシ 0.5 %水溶液 使用群	1	A1	901 (88.8)	B1	39	940 (92.6)	C1	62	1002 (98.7)	C2	7	1009	C8	0	1015 (100.0)
	2	A1	910 (93.2)	B1	32	942 (96.5)	C1	29	971 (99.5)	C2	3	974	C8	0	976 (100.0)
	3	A1	430 (91.7)	B1	14	444 (94.7)	C1	20	464 (98.9)	C2	5	469	C8	0	469 (100.0)
	4	A1	584 (87.4)	B1	8	592 (88.6)	C1	72	664 (99.4)	C2	4	668	C8	0	668 (100.0)
	5	A1	492 (89.1)	B1	10	502 (90.9)	C1	38	540 (97.8)	C2	10	550	C8	0	552 (100.0)
	計	A1	3317 (90.1)	B1	103	3420 (92.9)	C1	221	3641 (98.9)	C2	29	3670	C8	0	3680 (100.0)
対照群	6	B1	693 (59.7)	B2	156	849 (73.2)	C1	283	1132 (97.6)	C2	13	1145	C8	0	1160 (100.0)
	7	B1	1476 (81.9)	B2	58	1534 (85.1)	C1	264	1798 (99.8)	C2	2	1800	C8	0	1802 (100.0)
	8	B1	455 (69.4)	B2	43	498 (75.9)	C1	157	655 (99.8)	C2	0	655	C8	0	656 (100.0)
	9	B1	389 (77.5)	B2	28	417 (83.1)	C1	81	498 (99.2)	C2	2	500	C8	0	502 (100.0)
	10	B1	301 (54.1)	B2	83	384 (69.1)	C1	167	551 (99.1)	C2	2	553	C8	0	556 (100.0)
	計	B1	3314 (70.9)	B2	368	3682 (78.7)	C1	952	4634 (99.1)	C2	19	4653	C8	0	4676 (100.0)

表中各記号については第3表の註を参照のこと

そこで，附着全卵数と除卵率との関係を各洗剤使用事例，対照事例とも，得られた結果について検定してみたところ，いづれも5％以下の危険率で相関をみとめえなかつた(第2表)。すなわち，ふり洗い施行による除卵効果は，予め附着していた虫卵数の多寡によつては影響されないものと認めてよいことが判つた。

b) 洗滌除卵効果

各洗剤使用による除卵率と対照のそれとを比較した成績は第3表より第6表までに示される如くである。いまこれらの表をみるに，第1回ふり洗いによる除卵率は，対照45.5％～70.9％であるのに対し，洗剤使用事例は何れもほゞ90％内外の高率をしめした。即ち，L 91.1％，W 95.0％(対照70.5％)，M 90.1％(対照70.9％)，N_7 86.4％，N_{60} 94.2％(対照67.7％)，A 96.0％(対照45.5％)であつた。

洗剤液の中で洗つた野菜は，実際にはさらに葉面に附着する洗剤を除く目的により，水中ふり洗いを行うのが普通である。そこで，水中ふり洗い(第2回ふり洗い)による累計除卵率を検討してみる必要がある。第2回ふり洗いによる効果は，L 92.5％，W 96.3％(対照78.9％)，M 92.9％(対照78.7％)，N_7 89.7％，N_{60} 96.0％(対照77.9％)，A 96.6％(対照56.5％)と何れも第2回目の水中ふり洗いを加えることによつて若干除卵(累計)率の増加をみ，対照56～79％に対して洗剤使用群90～97％で，洗滌使用群に依然高率をみた。たゞし第2回ふり洗い自体による除卵率増加の度合いは対照事例の方により顕著で，対照事例平均10％の増率に対して洗剤使用事例2％の比であつた。なおふり洗いに引つゞき歯ブラシ法を施行すると，その1回施行により各事例とも殆んど全卵(90～99％)が除去された。

試験は Paired comparison の形式で洗剤使用事例と対照事例とは，つねに対比的に実施されている(たとえば表3では，No. 1，No. 6，No. 11 が，また No. 2，No. 7，No. 12 が各同時に)ので，その除去効果をSign-

第5表　ニッサンセブン，ニッサンニューレックスパウダーWによる洗滌除卵効果

種別	検薬 No.	除去虫卵数 方法	卵数	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	// 方法	卵数	累計
ニッサンセブン 0.2 %水溶液使用群	1	A1	543 (73.3)	B1	35	578 (78.0)	C1	158	736 (99.3)	C2	3	739	C8	0	741 (100.0)
	2	A1	1550 (87.5)	B1	56	1606 (90.7)	C1	154	1760 (99.4)	C2	9	1769	C8	0	1771 (100.0)
	3	A1	629 (89.6)	B1	20	649 (92.5)	C1	43	692 (98.6)	C2	3	695	C8	0	702 (100.0)
	4	A1	2048 (87.0)	B1	72	2120 (90.0)	C1	228	2348 (99.8)	C2	2	2350	C8	0	2353 (100.0)
	5	A1	948 (89.9)	B1	37	985 (93.5)	C1	67	1052 (99.8)	C2	0	1052	C8	0	1054 (100.0)
	計	A1	5718 (86.4)	B1	220	5938 (89.7)	C1	650	6588 (99.5)	C2	17	6605	C8	0	6621 (100.0)
ニッサンニューレックスパウダーW 0.3 %水溶液使用群	6	A′1	753 (89.0)	B1	8	761 (90.0)	C1	83	844 (99.8)	C2	1	845	C8	0	846 (100.0)
	7	A′1	5212 (95.5)	B1	65	5277 (96.6)	C1	173	5450 (99.8)	C2	8	5458	C8	0	5460 (100.0)
	8	A′1	2665 (96.4)	B1	38	2703 (97.8)	C1	54	2757 (99.7)	C2	8	2765	C8	0	2765 (100.0)
	9	A′1	3367 (94.5)	B1	62	3429 (96.2)	C1	130	3559 (99.9)	C2	2	3561	C8	0	3563 (100.0)
	10	A′1	2856 (91.0)	B1	118	2974 (94.8)	C1	152	3126 (99.6)	C2	5	3131	C8	0	3138 (100.0)
	計	A′1	14853 (94.2)	B1	291	15144 (96.0)	C1	592	15736 (99.8)	C2	24	15760	C8	0	15772 (100.0)
対照群	11	B1	832 (48.2)	B2	92	924 (53.5)	C1	790	1714 (99.3)	C2	8	1722	C8	0	1726 (100.0)
	12	B1	975 (81.3)	B2	128	1103 (92.0)	C1	94	1197 (99.8)	C2	2	1199	C8	0	1199 (100.0)
	13	B1	672 (62.0)	B2	144	816 (75.3)	C1	264	1080 (99.6)	C2	4	1084	C8	0	1084 (100.0)
	14	B1	1107 (78.5)	B2	139	1246 (88.4)	C1	162	1408 (99.9)	C2	1	1409	C8	0	1410 (100.0)
	15	B1	1417 (71.8)	B2	254	1671 (84.7)	C1	286	1957 (99.1)	C2	14	1971	C8	0	1974 (100.0)
	計	B1	5003 (67.7)	B2	757	5760 (77.9)	C1	1596	7356 (99.5)	C2	29	7385	C8	0	7393 (100.0)

表中各記号については第3表の註を参照のこと

test により検定してみた。いま，洗剤使用による第1回ふり洗い時の除卵率を対照のそれと同一であるとの仮設をおくとすれば($H_0: p=1/2$)，5回の試行によつて5回とも洗剤使用事例に効果大である確率は $p^5=(1/2)^5=1/32<0.05$ で，実際問題としてかゝる事象の実現する確率は0.05以下である。成績は各洗剤使用事例とも，5回の試行で5回とも対照の値よりも高率であつたので，帰無仮設は5%以下の危険率で否定できる。換言すれば，第1回ふり洗いによる除卵率は，各洗剤使用事例とも対照に比して大であると言いうる。

また，第2回ふり洗いによる除卵率(累計)について同様の検定を行つてみると，N_7 を除いた他洗剤使用事例では，いずれも5%以下の危険率で効果が増大されるということができる。

第6表 アデカクリーンによる洗滌除卵効果

種別	検薬No.	方法	卵数	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計	方法	卵数	累計
アデカクリーン 0.5%水溶液使用群	1	A1	1289 (91.2)	B1	21	1310 (92.6)	C1	93	1403 (99.2)	C2	9	1412	C8	0	1414 (100.0)
	2	A1	1150 (98.5)	B1	2	1152 (98.6)	C1	15	1167 (99.9)	C2	0	1167	C8	0	1168 (100.0)
	3	A1	1339 (96.1)	B1	5	1344 (96.5)	C1	48	1392 (99.9)	C2	0	1392	C8	0	1393 (100.0)
	4	A1	2209 (97.5)	B1	7	2216 (97.8)	C1	49	2265 (99.9)	C2	1	2266	C8	0	2266 (100.0)
	5	A1	1597 (96.1)	B1	16	1613 (97.1)	C1	44	1657 (99.7)	C2	5	1662	C8	0	1662 (100.0)
	計	A1	7584 (96.0)	B1	51	7635 (96.6)	C1	249	7884 (99.8)	C2	15	7899	C8	0	7903 (100.0)
対照群	6	B1	1046 (42.8)	B2	180	1226 (50.1)	C1	1194	2420 (99.0)	C2	18	2438	C8	0	2445 (100.0)
	7	B1	749 (42.5)	B2	144	893 (50.6)	C1	862	1755 (99.5)	C2	8	1763	C8	0	1764 (100.0)
	8	B1	393 (38.6)	B2	152	545 (53.6)	C1	453	998 (98.1)	C2	16	1014	C8	0	1017 (100.0)
	9	B1	410 (67.3)	B2	61	471 (77.3)	C1	133	604 (99.2)	C2	4	608	C8	0	609 (100.0)
	10	B1	812 (48.9)	B2	238	1100 (66.2)	C1	558	1658 (99.8)	C2	2	1660	C8	0	1662 (100.0)
	計	B1	3410 (45.5)	B2	825	4235 (56.5)	C1	3200	7435 (99.2	C2	48	7483	C8	0	7497 (100.0)

表中各記号については第3表の註を参照のこと

c) 洗剤による洗滌除卵効果の安定性

洗滌による除卵効果は，高率であると同時にその効果が安定であることが望まれる。そこで得られた成績にもとづき，洗剤使用による効果の安定性を対照のそれと比較し検討を加えてみた(第7表)。いま両者の除卵率について，その不偏分散を求め，これについてF検定による有意性を検してみたところ(分散系列の均齊性の検定)，第1回，第2回ふり洗い時とも概して洗剤使用事例に変動少く，効果安定であることが判つた。とりわけこの安定度は N_o, A, M につよく示された。

考按

合成洗剤液使用による蔬菜附着蛔虫卵の除去効果増大化の機序を考察するに，それは次の如くであろうと思われる。

試験に供した洗剤は，いづれも陰イオン活性剤で，そのミセル臨界濃度(Critical micelle concentration) 0.2%以上では強力な界面活性作用を呈する。すなわち，その作用は具体的には，湿潤，滲透，乳化，分散，可溶化，起泡等である。試みに洗剤溶液中に野菜を暫時浸漬後とり出してみると，葉面は一様に湿潤し，洗剤液のフィルムで覆われるが，水の場合には葉面は一様には濡れず所々水滴が残留するにとゞまる。したがつて洗剤液は附着虫卵面と葉面間，虫卵相互面間に容易に滲透，吸着し，各界面の自由エネルギーを減少せしめる。これに機械的なふり洗い操作を加えた場合には，容易に虫卵は葉面から脱離され，同時に洗剤ミセルにより被包，分散せられた虫卵は葉面乃至は虫卵相互間の再附着が阻止されるために除卵効果が増大されたものと考えられる。

勿論，除卵率そのものの値は，虫卵蛋白膜の粘性の程度，洗剤液中浸漬時間，ふり洗いの回数とその強さ等の僅少な条件のちがいによつてもかなり変動することが予想されうる。そこで洗滌効果試験時には，その都度全く同一虫卵材料，同一洗滌操作下で厳密なる対照比較試験

第7表 洗滌効果の安定性についての検定(分散系列の均齊性の検定)

種別	第1回ふり洗い		第2回ふり洗い	
ライポンF	V_1^2= 29.40	F_0= 1.59	V_1^2= 22.21	F_0= 1.47
対照(水道水)	V_2^2= 46.67		V_2^2= 15.01	
ワンダフル	V_1^2= 6.21	F_0= 7.52*	V_1^2= 5.58	F_0= 2.68
対照	V_2^2= 46.67		V_2^2= 15.01	
ミヨシ	V_1^2= 5.54	F_0=24.65**	V_1^2= 9.63	F_0= 4.68
対照	V_2^2=136.54		V_2^2= 45.12	
ニッサンセブン	V_1^2= 47.81	F_0= 3.81	V_1^2= 39.3	F_0= 6.06
対照	V_2^2=182.24		V_2^2=238.4	
ニッサンニューレックスパウダーW	V_1^2= 9.91	F_0=18.38**	V_1^2= 9.21	F_0≒25.88**
対照	V_2^2=182.24		V_2^2=238.4	
アデカクリーン	V_1^2= 7.88	F_0=16.46**	V_1^2= 5.42	F_0=26.00**
対照	V_2^2=129.74		V_2^2=141.03	

V^2 不偏分散 $n_1=4$, $n_2=4$

を行うことが必要であることは云うまでもない。

結語

6種の市販合成洗剤(石油系4種,アルコール系2種)を用い,それの0.2〜0.5%水溶液による野菜附着蛔虫卵の洗滌除去効果を水道水によるそれを対照として比較試験を行い若干の考察を加えた。

1. 被検洗剤水溶液は,いづれも試験濃度では無味,無臭で,ワンダフルのみがアルカリ性を呈する他は概ね中性である。

2. 液中で20回横にふる「ふり洗い法」では,洗剤使用事例は対照事例に比して何れも5%以下の危険率で除卵効果が大(対照事例46〜71%に対して洗剤使用事例86〜96%)且つ概してその効果の安定性がえられた。

3. またさらに,ひきつゞきこれを各水道水中でふり洗うときは,除卵率はいずれもさらに増加するが,第1回ふり洗い時と同様洗剤使用事例に高く(対照事例57〜79%に対して洗剤使用事例90〜97%),ニッサンセブン0.2%液を除いた他洗剤液では,5%以下の危険率で対照より効果大であると結論された。

4. なお葉面えの虫卵附着害度と同一洗滌操作による除卵効果との関係を検討し,両者間に相関が認められないことを述べ,併せて合成洗剤の界面活性作用による虫卵除去効果増大化の機序について考察した。

稿を終るに臨み,終始御懇篤なる御指導,御校閲の労をとられた部長小宮義孝博士に深甚なる謝意を表する。また種々有益なる御助言を戴いた東大物療内科増山元三郎博士ならびに予研石崎達博士に謹謝する。

(本研究の一部要旨は昭和31年第16回日本寄生虫学会東日本支部大会において発表した)。

参考文献

1) Kenshi Fueki (1952): On the modes of ascaris infection in Japan. Keio J. Med., 1(1), 21-34. —2) 後藤廉平(1955): 界面活性剤とは何か. 界面活性剤, 3-14, 第一工業製薬株式会社発行. —3) 伊勢村寿三(1955): 界面活性剤の利用 (一般概論). 界面活性剤, 23-30, 第一工業製薬株式会社発行. —北川敏夫・増山元三郎(1952): 統計数値表. 初版, 87頁, 東京, 河出書房. —5) 小宮義孝・小島邦子(1954): 蛔虫感染媒介者としての蔬菜に関する実態調査. 公衛, 15(5), 37-40. —6) 小宮義孝・和泉精一(1954): 野菜附着蛔虫卵の各種洗滌方法による除去率について. 公衛, 15(6), 109-112. —7) 美間博之(1953): 界面活性剤の生理作用と新しい応用—特に非イオン性活性剤について. 化学の領域, 7(11), 689-698. —8) 中山クニ子(1956): 蛔虫卵の経気道感染に関する研究, (1)蛔虫卵の気膠質としての性状—特に水中沈降速度について. 寄雑, 5(1), 84-

87. —9) 小田又蔵(1927)：野菜に附着せる人体寄生虫卵と其の水洗による減卵に対する一知見. 朝鮮医雑, 73, 26-32. —10) 斎藤マサ・岡谷良武(1950)：野菜に附着せる蛔虫卵の実験的研究. 公衞, 7(6), 353-355. —11) 清水重矢(1955)：野菜類に着いている蛔虫卵を除くにはどうしたらよいか. 給食の技術, 2(2), 21. —13) 千葉英一(1928)：京城府内販売の野菜に附着せる人体寄生虫卵検査成績及び蛔虫卵の発育程度に就て. 朝鮮医雑, 92, 809-829.

Summary

The authors tried to examine the effects of several syndets on the elimination of ascaris ova.

Cabbage leaves artificially contaminated with ascaris ova were washed by shaking them in the glass cylinder filled with 1*l* syndet solution (0.2-0.5 %) and then in tap water. Afterwards they were washed with a tooth-brush in a dish filled with tap water until the total eggs attached to them were removed. Such procedure was carried out with each syndets.

The removal effects of ascaris ova with these syndets were proved to be more effective than the procedure of simply washing of leaves with the tap water.

After the initial washing with syndets, ascaris ova removed amounted to 86-96 % of all, whereas the control showed only 46-71 % of them were removed.

強力駆虫に

本剤は定評ある純アスカリドール製剤で、良好な忍容性と、強力な駆虫作用を有し、特に十二指腸虫及び蛔虫の駆除に確実な効果を発揮致します.

バイエル　駆虫剤

BAYER

アスカリドール液

病院並びに集団駆虫用包装 500cc

輸入元　吉富製薬株式会社　大阪市東区道修町二　販売元　武田薬品工業株式会社　(A61)

寄生虫学雑誌

(Japanese Journal of Parasitology)

Vol. 6 No. 5 1957

昭和32年9月25日 印刷
昭和32年10月1日 発行

編集兼発行　日本寄生虫学会
印刷人　向　喜久雄
印刷所　一ツ橋印刷株式会社

学会事務所　東京都品川区上大崎長者丸
国立予防衛生研究所内
電話白金(44) 2181-2186
内線 69, 70
(編集) (会計)
振替口座 東京 1451